
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

ROLE DU PNEUMOCOQUE DANS LA PATHOLOGIE ET DANS LA PATHOGÉNIE DE LA MALADIE DU SOMMEIL

PAR LE D^r E. MARCHOUX
IMÉDECIN PRINCIPAL DES COLONIES

I. — IMPORTANCE DES AFFECTIONS A PNEUMOCOQUE.

Au mois de mars 1896, arrivait à Saint-Louis un détachement de tirailleurs sénégalais qui avaient été engagés au Soudan pour aller servir à Madagascar. Hâtivement recrutés, ils avaient été expédiés de Kayes sans être habillés. Fatigués par le voyage pénible du fleuve, qui dure à cette époque 40 jours en chalands, mal nourris, ils étaient encore insuffisamment vêtus pour passer d'un climat très chaud à une région relativement froide comme celle de Saint-Louis, où la température tombe pendant la nuit à 16 ou 18° avec grand vent.

Aussi ont-ils débarqué dans un état de santé très précaire, après avoir même laissé quelques-uns d'entre eux dans les ambulances des postes du fleuve. Le jour même de l'arrivée, 6 hommes ont été amenés à l'hôpital atteints de pneumonie, et les entrées se sont succédé quotidiennement pendant tout leur séjour dans la ville.

Un mois plus tard, un nouveau convoi arrivait dans les mêmes conditions, avec les mêmes accidents, et fournissait autant de malades. En somme, du 23 mars au 3 mai, dans ces deux groupes de tirailleurs, 48 ont été atteints d'affections pneumococciques. Parmi ces 48 malades, il s'est produit 12 décès.

L'effectif total étant de 200 hommes, il y a donc eu 24 0/0 de malades avec 6 0/0 de décès.

Les renseignements qui nous sont parvenus ultérieurement nous ont appris que ce mauvais état sanitaire s'était continué pendant toute la durée du voyage à Dakar, et sur le *Paraguay* qui les a transportés à Madagascar.

Nous avons pensé tout d'abord qu'une pareille épidémie était un accident peu commun sur la côte d'Afrique, et qu'elle tenait uniquement aux conditions exceptionnelles dans lesquelles s'étaient trouvés nos tirailleurs. Mais nous n'avons pas tardé à nous convaincre que les affections à pneumocoque, loin d'être rares chez les peuples du Sénégal, formaient, au contraire, la majorité des affections aiguës dont sont atteints les indigènes. Depuis 3 ans, aussi bien les noirs de Saint-Louis que ceux des environs qu'il nous a été permis de voir nous en ont donné trop souvent la preuve. Pour citer des chiffres, nous avons pu relever en moins de 2 ans et demi, sur le registre des entrées de l'hôpital, 184 malades atteints de pneumonie plus ou moins grave. Si l'on tient compte qu'on n'y reçoit que la population militaire, dont l'effectif moyen est de 600 hommes environ, si l'on sait que ces hommes ne vivent point casernés, mais qu'ils habitent le village au même titre que la population civile, on comprendra rapidement quelle importance prend le pneumocoque dans la pathologie de notre colonie.

Un autre exemple encore plus frappant fera ressortir la gravité d'un fléau qui finit par faire plus de victimes qu'une grande épidémie, car il se renouvelle périodiquement sans doute depuis de longues années.

Au mois de mars 1898, le chef de la province du Oualo informait l'administration que la mortalité s'élevait à d'énormes proportions dans les populations qu'il administre. L'affection qui régnait, disait-il, ressemblait à une épidémie de tétanos. Les gens étaient pris presque subitement, et ne tardaient pas à mourir avec de la raideur de la nuque et une forte fièvre.

Notre adjoint, M. le Dr Marotte, fut envoyé dans cette région où il put voir beaucoup de malades présentant effectivement les symptômes décrits par le chef de la province. L'outillage restreint dont disposait M. Marotte, la difficulté de faire accepter les autopsies par des gens aussi primitifs, et de les exécuter

discrètement dans un village à population dense, ont malheureusement empêché notre aide de recueillir un grand nombre de renseignements. Il put cependant adresser au laboratoire quelques pipettes de sang retiré aseptiquement des veines du pli du coude chez quelques malades.

Grâce à l'autorité du chef, il réussit à pratiquer une autopsie et à envoyer des pièces. Mais à partir de ce moment les difficultés augmentèrent encore, et il eut les plus grandes peines à approcher les malades. Du matériel envoyé, il fut possible cependant de tirer de précieux renseignements.

Quatre séries de pipettes, provenant de quatre malades, ont été examinées etensemencées. Le microscope ne permit de trouver aucun microbe. Mais l'ensemencement, négatif pour trois d'entre elles, donna pour la quatrième une culture pure de pneumocoques.

Les pièces d'autopsie, pulpes de foie et de rate, liquide céphalo-rachidien, et pulpe cérébrale, furentensemencées. Toutes donnèrent des cultures de pneumocoques, associés à du *bactérium coli* dans le foie et dans la rate, pures dans le liquide céphalo-rachidien.

Ces constatations, jointes aux caractères cliniques relevés sur les malades, permettent d'affirmer que nous étions en présence d'une épidémie de méningite cérébro-spinale à pneumocoques.

Les pneumonies devaient être certainement très nombreuses dans les villages atteints, mais elles n'ont pas été signalées ni connues. Outre que les noirs n'attribuaient pas aux méningites si rapidement mortelles la même origine qu'à ces affections pulmonaires dont ils s'inquiètent peu en général, ils ont une très grande répugnance à consulter les médecins européens. Quand on fit le dénombrement des décès survenus par suite de méningite dans les trois mois où sévit la maladie, on constata, non sans étonnement, qu'ils atteignaient le chiffre de 200 en nombre rond dans une population de 20,000 habitants environ.

II. — ÉTIOLOGIE.

A quoi attribuer la fréquence de telles affections parmi les noirs, quand les Européens, résidant dans la colonie, y sont tellement insensibles qu'en cinq années de séjour au Sénégal, il ne

nous a pas été donné d'observer un seul cas de pneumonie franche chez eux. La race indigène manifeste à la vérité une sensibilité particulière dont témoigne la fréquence des généralisations; mais on va voir que la manière de vivre de ces populations laisse autant de place aux causes prédisposantes qu'à la contagion. Le climat du Sénégal présente des variations assez grandes, contre lesquelles les noirs ne savent point se défendre. A la saison chaude et humide qui dure de juillet à novembre, et où le thermomètre reste presque continuellement entre 26° et 35°, succède assez brusquement une période d'hiver pendant laquelle la température, qui peut s'élever dans la journée, quand souffle le vent d'Est, à 35° et même 38°, tombe jusqu'à 15° à Saint-Louis et plus bas encore dans l'intérieur. Une forte brise accentue souvent l'effet de ces variations, contre lesquelles l'Européen est obligé de se protéger par des vêtements très chauds.

Les noirs, au contraire, sont absolument dépourvus de moyens de défense. Ils habitent des cases en paille dont les parois, formées de nattes grossières et peu serrées, sont très minces. Il y fait très chaud pendant le jour, très froid pendant la nuit. Le vent y pénètre de tous côtés à travers la muraille, et les habitants ne lui opposent aucune couverture, presque aucun vêtement.

Les étoffes de laine, en usage autrefois au Sénégal, ont cédé la place aux cotonnades anglaises avec lesquelles les noirs s'habillent aujourd'hui presque exclusivement. Une pièce d'étoffe pour le torse compose le *boubou*, une autre pour la moitié inférieure du corps forme le *pagne*. Comme beaucoup de primitifs, ils ne savent se protéger du froid qu'en ajoutant d'autres pagnes et d'autres boubous à ceux qu'ils portent. Encore ce luxe n'est-il permis qu'aux gens riches. Les autres n'ont qu'un seul vêtement qu'ils laissent flotter ou dans lequel ils s'enroulent.

Pour les enfants, quand ils sont vêtus, c'est d'une simple chemise. Disons en passant que c'est dans la population infantile que la mortalité est la plus élevée.

Il est presque inutile de dire que le lit se compose d'une simple natte ou d'une paille sans couverture.

Comment s'étonner, quand on sait l'importance du refroidissement dans le développement des maladies et de la pneumonie en particulier, que cette dernière affection fasse tant de victimes?

L'absence des soins les plus élémentaires de propreté et d'hygiène rend facile le transport des germes.

Dans ce pays où l'eau est rare, on ne se lave guère. Les ablutions prescrites par la religion musulmane se font avec du sable ou quelques cuillerées d'eau. C'est la pluie qui est chargée du blanchissage du linge.

La promiscuité est très grande; les nègres vivent souvent au nombre de 7 ou 8 dans une case de 9 mètres carrés.

Le plat est commun, chacun y puise avec la main dans laquelle il se mouchoit un instant auparavant.

Tout le monde crache sans précautions sur le sol formé presque partout de sable marin.

Enfin les noirs, quelquefois très pusillanimes devant la moindre douleur, promènent assez facilement leur pneumonie sans se plaindre, répandant partout le pneumocoque sur le sol.

C'est ainsi qu'on a pu voir tomber, dans les rangs, des tirailleurs qui ne s'étaient point fait porter malades et qui mouraient 12 heures plus tard de méningite suppurée.

III. — MALADIE ET MICROBE.

Des noirs, vivant dans des conditions hygiéniques aussi déplorables, offrent au pneumocoque un terrain de culture particulièrement favorable.

La pneumonie franche est rare chez eux; la maladie est envahissante et peut atteindre toutes les séreuses. Les complications articulaires sont cependant peu communes; mais la pleurésie existe toujours, la péricardite souvent : le péritoine et la vaginale sont quelquefois atteints.

Nous avons même rencontré chez un enfant une pneumonie, accompagnée seulement de vaginalite purulente, qui a parfaitement guéri après ouverture et évacuation du pus. Mais de toutes les complications, la plus grave et malheureusement celle qui n'est pas la moins rare, c'est la méningite cérébro-spinale. Nous l'avons même vu exister seule sans pneumonie chez un certain nombre d'individus, et nous en avons relaté ailleurs 3 observations¹.

1. *Archives de médecine navale et coloniale*, 1896.

Dans ce cas, l'infection des méninges se fait la plupart du temps par les sinus frontaux, que nous avons trouvés dans les 2/3 des cas remplis du même pus à pneumocoques.

La méningite à pneumocoques ne présente au Sénégal aucun caractère qui la distingue de celle qu'on observe en Europe. La forme comateuse avec raideur de la nuque est de beaucoup la plus commune; le délire actif est rarement constaté. Les autopsies révèlent le plus généralement la présence de ce pus concret, pseudo-membraneux, qui a été maintes fois décrit; d'autres fois, on ne trouve le long des vaisseaux de la convexité que des traînées laiteuses chargées de pneumocoque. Enfin, dans quelques cas à terminaison très rapide, le microbe existait très abondamment dans le liquide céphalo-rachidien augmenté de volume, sans qu'il y ait aux méninges de traces microscopiques d'inflammation.

L'examen microscopique et les cultures ont décelé la présence, le plus fréquemment exclusive, du pneumocoque encapsulé. Deux fois sur 19 autopsies, nous l'avons trouvé associé au streptocoque, une fois au coli-bacille.

Jamais, malgré des recherches attentives, nous n'avons constaté la présence du *diplococcus intracellularis* de Weichselbaum, même dans les cas de méningite sans pneumonie. Au lieu d'un aspect arrondi, le pneumocoque affectait plutôt une forme tellement allongée en flamme de bougie qu'on pouvait le prendre à un examen superficiel pour un diplo-bacille. Mais par la coloration de Gram, on pouvait s'assurer que chaque élément était en voie de segmentation, et qu'on se trouvait en présence d'une chaînette de deux diplocoques.

En gélose, il donnait des colonies en buée de rosée, poussait dans le bouillon en formant des courtes chaînettes, dans le sérum liquide sous forme de diplocoques encapsulés. Très virulent pour le lapin, le cobaye et la souris quand on l'inoculait avec du liquide céphalo-rachidien, il baissait rapidement de virulence dès la première culture. Là où 1/4 de c. c. suffisait pour amener la mort d'un lapin en 24 heures, il en fallait un c. c. et quelquefois plus quand on se servait de la première culture en bouillon. Mais nous avons constaté qu'un pneumocoque dépourvu de virulence pour le lapin et le cobaye, tuant encore à peine la souris, reprenait facilement toute sa virulence si on

le cultivait pendant 24 heures dans un bouillon mélangé de $\frac{1}{5}$ de sang de noir. Chose curieuse, le sang d'Européen ne produit pas à beaucoup près la même exaltation, comme en témoigne l'expérience suivante.

Un même pneumocoque, tuant la souris en 48 heures, ne tuant ni le lapin ni le cobaye, est mis à cultiver pendant 24 heures :

1^o Dans un ballon contenant 40 c. c. de bouillon de bœuf peptonisé et 10 c. c. de sang de noir, prélevé aseptiquement à une veine du pli du coude;

2^o Dans un ballon renfermant 40 c. c. du même bouillon additionné de 10 c. c. de sang d'Européen.

Au bout de 24 heures, on inocule deux séries de lapins.

1^{re} SÉRIE.

Bouillon n° 1.....	{	Lapin I reçoit $\frac{1}{4}$ c. c.; meurt en 36 heures.
		Lapin II reçoit 1 c. c.; meurt en 24 heures.
		Lapin III reçoit 2 c. c.; meurt en 24 heures.

2^e SÉRIE.

Bouillon n° 2.....	{	Lapin I reçoit $\frac{1}{4}$ c. c.; survit.
		Lapin II reçoit 1 c. c.; survit; meurt un mois plus tard de paralysie ascendante.
		Lapin III reçoit 2 c. c.; meurt en 48 heures.

Le sang de noir semble donc un milieu de choix pour la culture de ce microbe, qui s'y conserve d'ailleurs très longtemps virulent puisque, deux mois plus tard, 1 c. c. de ce bouillon n° 1 tuait encore le lapin sans nouvelle culture.

Le bouillon n° 2 était à la même date totalement dépourvu de virulence.

Nous avons pu conserver pendant plus de 6 mois du pneumocoque virulent à très petite dose dans du liquide pleurétique provenant d'un indigène. A cette date, le liquide, citrin au début, avait pris une couleur vert bouteille foncé sans que la culture cessât d'être pure.

Avant de terminer ce qui a trait au microbe, il convient de signaler que dans toutes les autopsies nous avons pu constater un fait sur lequel a insisté récemment un auteur italien, Righi, à savoir que le pneumocoque se rencontrait dans le sang et dans tous les organes. Sur le vivant, dans un tiers des cas à la

période d'état de la pneumonie, et dans les $\frac{4}{5}$ des cas de méningite cérébro-spinale, nous avons pu, en retirant aseptiquement 5 c. c. de sang, obtenir des cultures pures et virulentes de pneumocoque.

IV. — PNEUMOCOQUE ET MALADIE DU SOMMEIL.

Tous les cas de méningite cérébro-spinale ne se terminent pas par la mort. Un certain nombre guérit sans laisser de traces. Mais dans quelques cas le retour à la santé n'est pas complet, l'inflammation a laissé dans les méninges des lésions durables, méningo-encéphalite diffuse, dont les symptômes cliniques constituent le tableau de ce qu'on est convenu d'appeler maladie du sommeil.

L'histoire de cette affection ne fut connue pendant longtemps que par le récit qu'en faisaient les voyageurs. On l'a tour à tour attribuée à un empoisonnement ou à un virus, connu de certaines gens qui s'en servaient dans un but criminel. Aujourd'hui encore les indigènes la considèrent comme une malédiction du ciel ou des sorciers, et cachent avec soin les malades, qu'on ne peut, en général, approcher que par surprise.

Ces conditions ont contribué à en rendre l'étude beaucoup plus difficile. Aussi les descriptions écourtées qu'on en trouve dans les auteurs anciens donnent un tableau très infidèle de la maladie. Calmette a publié en 1888, dans les *Archives de Médecine navale*, l'observation très intéressante d'un cas qu'il a observé au Gabon, et à propos duquel il insiste sur les lésions des méninges. Il a constaté à l'autopsie des signes de méningo-encéphalite, surtout marqués du côté du cervelet. Les lésions pie-mériennes s'étendaient au bulbe et à la moelle.

Dans ces derniers temps on a voulu, à distance, trouver quelques rapports entre le myxœdème et la maladie du sommeil. Mais ce rapprochement ne se justifie qu'à certains points de vue.

M. Régis et Gaide ont publié dans la *Presse Médicale*¹ l'analyse d'un cas observé aux environs de Tombouctou, et ils concluent à une méningo-encéphalite diffuse d'origine infectieuse.

Ce cas, observé à plus de 2,000 kilomètres de la côte, de même

1. RÉGIS et GAIDE, Rapports entre la maladie du sommeil et le myxœdème. *Presse Médicale*, 1^{er} octobre 1898.

que celui de Calmette au Gabon et de plusieurs autres sur d'autres points de la côte occidentale d'Afrique, détruisent cette opinion, accréditée depuis longtemps au Sénégal, que la maladie était localisée dans une province limitrophe de la mer et peuplée par les Sérères. Tout ce qu'on peut dire en faveur de cette pseudo-localisation, c'est qu'en effet la maladie du sommeil semble plus commune dans les provinces Sérères que dans les pays Ouoloffs. Cela tient sans doute à ce que les Sérères féticheurs sont en même temps des buveurs d'alcool, tandis que les autres sont musulmans et se privent d'alcool. Il convient d'ajouter aussi que l'hygiène du vêtement est encore plus rudimentaire chez les premiers que chez les seconds.

C'est dans les provinces Sérères que nous avons pu, à grand-peine et grâce au bienveillant concours de l'administration, nous procurer les deux malades dont nous allons donner les observations.

Le premier, M., catholique, est né à Kita, qu'il a quitté dans son enfance. Habite à Saint-Joseph dans les provinces Sérères depuis 19 ans. A eu souvent de la fièvre qu'il a guéri sans soins. Affirme qu'il n'a jamais eu ni chancre, ni autre accident syphilitique. Prétend n'avoir jamais été sérieusement malade, sauf depuis deux mois où il souffre presque constamment de la fièvre. Le thermomètre accuse en effet une température de 38°,7.

Sa maladie a débuté par de la toux et de violents maux de tête. Actuellement il tousse encore beaucoup et crache abondamment. Le nez est le siège d'un écoulement purulent jaunâtre.

Les signes stéthoscopiques permettent de reconnaître un engouement des deux bases pulmonaires, avec submatité et râles muqueux répandus partout. Les ganglions cervicaux et sous-maxillaires sont gros et durs.

Le malade louche un peu, le regard est distrait, l'œil brillant, l'attention difficile à fixer longtemps, le caractère facilement irritable, le verbe haut. Il se plaint de maux de tête. N'accuse pas de gêne respiratoire.

Il répond assez nettement aux questions qui lui sont adressées.

L'écoulement nasal jaune verdâtre contient de nombreux pneumocoques qu'on isole assez facilement en cultures pures et qui tuent la souris.

Les crachats denses, jaunes, contiennent de nombreux glo-

bules de pus et des filaments de fibrine. On y trouve le pneumocoque virulent en grande abondance.

Pendant son séjour à l'hôpital, du 1^{er} août au 7 septembre, le malade a été soumis au traitement anti-syphilitique sans qu'il se manifestât dans son état une amélioration sensible.

Pendant le premier septennaire, la température s'est maintenue aux alentours de 39°, puis est descendue dans la suite, atteignant souvent la normale le matin, mais s'élevant presque chaque soir de 37°,6 à 38°.

L'état général a présenté peu de modifications. Les signes stéthoscopiques ont disparu du côté du poumon. L'écoulement nasal s'est tari.

Mais les ganglions sont restés volumineux, et le malade a accusé pendant une dizaine de jours de la gêne douloureuse pour mouvoir la tête.

La physionomie a conservé le même cachet. Le malade, dont l'attention était quelquefois vivement sollicitée par des causes insignifiantes, restait le plus souvent indifférent à ce qui se passait autour de lui. Il était presque constamment étendu sur son lit dans un demi-sommeil. Quand on l'interrogeait, il prétendait qu'il se portait très bien, et il demandait avec insistance qu'on lui donnât son *exeat* ou qu'on lui permit de travailler.

A plusieurs reprises, on a tenté de lui confier quelques petits ouvrages qu'il n'a pas tardé à abandonner pour retomber dans sa somnolence. Enfin le 7 septembre, pour des raisons d'ordre pécuniaire, il est renvoyé de l'hôpital. Depuis cette époque nous l'avons perdu de vue.

En somme, cet homme a été atteint d'une pneumonie, dont on a pu à l'hôpital constater les symptômes terminaux. La rhinite dont il était porteur témoignait d'une affection des sinus, d'origine pneumococcique comme celles dont nous avons constaté la présence dans les autopsies de méningite cérébro-spinale que nous avons faites. Les troubles cérébraux observés chez lui permettent de penser que les méninges ne sont pas restées insensibles à ce voisinage, et qu'elles ont été le siège d'une inflammation dont les suites ont entraîné de la méningo-encéphalite diffuse.

Le deuxième sujet, au lieu d'être au début, était à la période

d'état de la maladie quand il nous est arrivé à l'hôpital le même jour.

Son état ne lui permet de donner aucun renseignement ni sur ses antécédents, ni sur les débuts de sa maladie.

Il a la peau un peu sèche, écailleuse à la face externe des jambes. Elle est le siège d'un peu de prurit. La sensibilité est bien conservée. On constate un léger œdème des extrémités inférieures.

Le malade est bien musclé et nullement amaigri. Il ne porte pas de traces d'atrophies. L'activité fonctionnelle des muscles est à peu près conservée. Il cherche cependant un point d'appui pendant la marche, traîne un peu la jambe gauche et n'appuie pas à terre le talon du même côté. Quand on lui demande de serrer la main, l'effort est très faible, mais il semble que ce soit l'influx de la volonté qui fasse surtout défaut.

Le tibia droit porte la trace d'une fracture ancienne dont on perçoit encore le cal.

A quatre travers de doigt au-dessus de la malléole interne gauche, on trouve une légère exostose douloureuse à la pression. Le malade a conservé son appétit, il a même un peu de boulimie. Il digère bien, quoiqu'il ait plusieurs fois par jour des selles pâteuses. Les dimensions de la rate et du foie ne sont pas augmentées.

Le cœur est normal comme volume et comme bruit. Les artères sont un peu dures et roulent sous le doigt : le pouls est lent. Aucun signe stéthoscopique ne révèle de lésion aux poumons. Les mouvements respiratoires sont inférieurs comme nombre à la normale.

Pas de polyurie, mais les urines contiennent une grande quantité d'albumine.

Tous les ganglions lymphatiques sont durs et augmentés de volume : les ganglions cervicaux surtout forment un paquet si gros que le malade semble atteint d'oreillons.

Tact conservé, ouïe intacte.

La vue paraît bonne. De temps en temps il y a du strabisme, l'œil droit est dévié en haut et en dehors. Pas d'inégalité pupillaire. Réaction parfaite à la lumière.

Odorat et goût très obtus.

Le malade est dans un état de déchéance intellectuelle des

plus prononcés. Chaque fois qu'on lui adresse la parole, il est pris d'un rire stupide et ne répond que lentement par monosyllabes à demi bredouillés.

La volonté est surtout très affaiblie. Il obéit aux directions qui lui sont imprimées, mais est incapable de se diriger seul.

Il s'intéresse peu à ce qui se passe autour de lui; quand il entend un bruit un peu fort, il marque son attention par le même rire imbécile.

Il reste continuellement étendu sur son lit, mais ne dort point constamment : il est plutôt dans un état d'hébétude tranquille. Il se lève, quand on le prévient, pour prendre sa nourriture, mange aussi proprement que ses camarades.

Pas de relâchement des sphincters.

Il se lève aussi pour aller à la selle, mais s'inquiète peu du vase, sur lequel on doit le diriger.

Pas de tremblement des mains, des lèvres, ni de la langue.

Les réflexes rotuliens sont conservés.

La température est restée normale, avec quelques ascensions vespérales jusqu'aux environs de 38°.

Est évacué le 22 août sur l'hôpital civil dans le même état. Comme l'autre, il a été soumis sans bénéfice au traitement anti-syphilitique. Jusqu'au 10 octobre la situation du malade s'est maintenue sans grand changement : à cette date il a été pris de fièvre. Pas de symptômes pulmonaires, mais dyspnée assez forte.

Il succombe le 20 octobre au soir, et le 21 au matin nous faisons l'autopsie. Nous constatons une adénite de tous les ganglions.

Les ganglions cervicaux, bronchiques, de l'aisselle et de l'aîne sont les plus volumineux. Ils sont durs et violacés. A la coupe, ils sont rouge foncé, parsemés de taches blanches qui font ressembler la surface de section à une mosaïque.

Le gros intestin est plein de cybales. — La rate est petite, dure, sclérosée. — Le foie est gras. — Les reins petits, blancs, sont envahis par le tissu conjonctif.

Le poumon droit est sain, la plèvre du même côté est maintenue par une adhérence peu étendue, siégeant en arrière et à la partie moyenne.

Le poumon gauche est couleur lie de vin, très congestionné.

La plèvre est adhérente sur toute sa surface. Il est impossible de retirer le poumon sans le déchirer. Celui-ci crépite bien, mais par l'expression il laisse échapper une spume jaunâtre.

Le péricarde est rempli par un exsudat pseudo-membraneux jaune, verdâtre, recouvrant les deux feuillets.

Ces fausses membranes renferment une véritable culture de pneumocoques virulents.

A l'ouverture de la boîte crânienne, les sinus sont examinés et ne contiennent pas de pus.

Pas de pachyméningite interne ni externe.

La surface convexe des deux hémisphères a un aspect laiteux, surtout marqué le long du trajet des vaisseaux. La pie-mère est épaisse, très adhérente à la couche corticale, dont on ne peut la séparer sans amener des déchirures. Pas de noyaux de ramollissement. Les vaisseaux sont dilatés, gorgés de sang.

A la coupe du cerveau, on remarque un piqueté rouge de toute la surface de section. En déchirant le tissu, des capillaires sont étirés et finalement pendent à la surface comme autant de fils. La substance grise est pâle.

Les ventricules sont gorgés de liquide clair. Le liquide céphalo-rachidien est augmenté de volume. Comme nous le disons plus haut, le péricarde contient du pneumocoque pur.

Le liquide céphalo-rachidien, la pulpe et les ganglions de tous les organes ont étéensemencés et ont donné des cultures diverses de coccus et de coli-bacilles, mais pas de pneumocoques¹.

Cette observation semble calquée sur celle de MM. Régis et Gaide, au moins dans sa première partie, à cette différence que nous n'avons pas plus constaté chez notre deuxième malade que chez notre premier, d'augmentation de volume du corps thyroïde. Peut-être pourrait-on penser, comme l'autopsie du malade de Tombouctou n'a pas été faite, que les paquets ganglionnaires qui s'étendent le long des vaisseaux cervicaux, de chaque côté du corps thyroïde, ont pu en imposer pour une tumé-

1. En somme, les lésions que nous avons trouvées au poumon gauche nous permettent, croyons-nous, de penser que notre malade a été d'abord atteint de pleuro-pneumonie accompagnée de méningite cérébro-spinale. Après avoir guéri de cette affection, non sans avoir conservé des lésions durables de la substance corticale du cerveau, il a succombé à une reprise du pneumocoque qui, après avoir somméillé dans un coin de l'organisme, a déterminé la péricardite végétante que nous avons constatée à l'autopsie.

faction de cet organe. Quoi qu'il en soit, notre observation ne fait que confirmer celle des deux auteurs précités, et la conclusion est qu'il faut considérer la maladie du sommeil comme une méningo-encéphalite diffuse, d'origine infectieuse.

Nous ne prétendons pas qu'un pareil état pathologique soit toujours l'œuvre d'un seul et même germe, mais les deux observations et la fréquence au Sénégal des affections à pneumocoque nous donnent le droit de penser que le microbe de Talamon-Fränkel en est l'agent producteur par excellence.

V. — ESSAIS DE TRAITEMENT SÉROTHÉRAPIQUE.

Nous ne voulons pas terminer cette étude sans parler de quelques essais de traitement par le sérum de convalescents, essais qui ont été tentés en 1896 avec notre excellent ami le Dr Clouard, à cause des circonstances particulièrement favorables dans lesquelles nous nous trouvions.

Le deuxième convoi de tirailleurs est arrivé à Saint-Louis à la fin de mars, au moment où un certain nombre des malades du premier détachement étaient guéris depuis quelque temps.

Les résultats publiés par les frères Klemperer étaient trop encourageants pour que nous ne tentions pas de les répéter.

Nous avons donc choisi trois convalescents de pneumonie grave, auxquels nous avons retiré aseptiquement, d'une veine du pli du coude, un poids total de 1,400 grammes de sang qui nous ont fourni 750 grammes de sérum.

Ces trois hommes étaient guéris depuis 21, 23 et 28 jours quand nous avons pratiqué la saignée.

Quatre malades ont été soignés. Le premier était en traitement depuis quatre jours pour une pneumonie double, quand il est pris d'écoulement nasal avec céphalalgie frontale tellement violente qu'elle nous fait craindre une méningite. La température est à 41°. On lui injecte le 28 avril 50 c. c. de sérum sous la peau de l'abdomen.

Le lendemain, le malade se sent un peu mieux, la céphalalgie est toujours considérable, mais moins violente que la veille. — T. le matin : 39°, 5. — Il reçoit encore une dose de 40 c. c. de sérum. Le soir, état général meilleur. — T. 40° — Céphalalgie presque disparue, écoulement nasal tari.

Le 30 avril, la crise se produit. — T. 37°,9.

Le malade entre en convalescence.

Le deuxième malade, B, est en traitement depuis 5 jours pour une pneumonie double avec pleurésie à droite.

Délire constant, fièvre très forte. — T. 40°,9. — Reçoit le 28 avril 50 c. c. de sérum sous la peau de l'abdomen.

Le lendemain, mieux à peine sensible, moins de délire. — T. 40°. — Nouvelle injection de 50 c. c. de sérum. Le soir, la température atteint 40°,2.

Le 30 avril, état général meilleur, le délire a presque cessé. — T. 39°,9. — 50 c. c. de sérum sont encore injectés. Le soir, le mieux se continue. — T. 39°,8.

Le 1^{er} mai, la température est à 38°,8, le malade se sent bien, râles crépitants de retour dans le poumon gauche. On cesse le traitement et le malade se remet petit à petit.

Le 3 mai, il demandait à manger et entrait en convalescence. Sa pleurésie était en bonne voie de guérison.

Le troisième malade, S., avait une pneumonie à droite, accompagnée de pleurésie. Il paraissait convalescent quand il est pris de délire violent avec fièvre. — T. 39°,9. — Les yeux hagards et brillants. Pas de raideur de la nuque. Pas d'écoulement nasal, pas d'otite. Cependant nous craignons une méningite, et le 29 avril on lui injecte 50 c. c. de sérum.

Le lendemain, pas de modification dans l'état général. T. 39°,7, le matin; 40°,7, le soir. Injection de 50 c. c. de sérum.

Le 1^{er} mai, l'état est le même le matin. — T. 39°,7. — 50 c. c. de sérum.

Le soir, la température est à 39°,6, le malade est plus calme.

Le 2 mai, T. 39°. Le délire a cessé. 30 c. c. de sérum. — Le soir, T. 39°,1.

Le lendemain, le malade revenait à la santé, la température était de 38°,2. Le traitement a été supprimé. Peu à peu S. s'est remis complètement, et il sortait 18 jours après absolument guéri.

Le quatrième malade, C., avait une pneumonie légère dont il semblait convalescent, quand la fièvre se rallume le 28 avril.

Température très élevée. Symptômes de péricardite et de péritonite généralisée.

La vaginale ouverte le 30 laisse écouler une abondante quantité de pus chargé de pneumocôques.

Il reçoit, du 28 au 30, 200 c. c. de sérum sans succès et meurt le 1^{er} mai au matin.

A l'autopsie on trouve pleurésie droite, péricardite pseudo-membraneuse; péritonite généralisée et vaginalite; méningite cérébro-spinale purulente. Cette dernière localisation ne s'était manifestée par aucun des signes ordinaires. Jusqu'au 30 avril le malade répondait aux questions qui lui étaient posées, et prenait dans le lit, sans grande difficulté, toutes les positions qu'on lui indiquait.

En somme, de nos 4 malades, 3 ont certainement bénéficié des injections de sérum. Chez le 1^{er} la crise est survenue le 7^e jour et les symptômes graves du côté des sinus ont été promptement supprimés.

Chez le 2^e, la crise est survenue seulement le 9^e jour, mais la gravité des symptômes que présentait le malade, et que nous avons vus maintes fois suivis de terminaison fatale chez les noirs qui, en général, réagissent très peu, permet de supposer que là non plus le sérum n'a pas été inutile.

Le 3^e malade a présenté des signes très nets d'envahissement des méninges. La maladie prise au début a évolué vers la guérison avec une rapidité telle que là encore les injections pratiquées paraissent avoir exercé une influence très heureuse.

L'échec que nous avons eu avec notre 4^e malade s'explique facilement par la multiplicité et la gravité des lésions et n'est pas de nature à décourager.

Nous aurions désiré donner d'une façon moins écourtée les observations de ces quatre malades, mais les feuilles cliniques ayant été perdues, nous avons dû nous contenter des renseignements que nous avons consignés dans nos notes malheureusement trop brèves.

Que mes deux camarades et amis, les D^{rs} Clouard et Portel me permettent, en terminant, de leur adresser mes remerciements pour leur obligeance à me faciliter les moyens de recueillir une grande partie de ces notes.

ÉTUDE SUR L'IMMUNITÉ VIS-A-VIS DES COMPOSÉS ARSÉNICAUX

DEUXIÈME MÉMOIRE

DU RÔLE DES LEUCOCYTES DANS L'INTOXICATION

PAR UN COMPOSÉ ARSÉNICAL SOLUBLE

PAR LE D^r BESREDKA

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Plus on avance dans l'étude des maladies microbiennes, plus on voit la part importante qui y revient aux produits microbiens solubles.

Les recherches de M. Metchnikoff et de ses nombreux élèves ont mis en évidence les moyens à l'aide desquels l'organisme parvient à se débarrasser des microbes.

Nous nous sommes proposé de chercher comment l'organisme se défend contre l'action des toxines, par quels phénomènes cet acte se traduit et quelles en sont les conséquences immédiates.

Les anciennes recherches de M. Metchnikoff sur la pneumo-entérite des porcs, puis sur le choléra, les recherches récentes relatives à la toxine tétanique faisaient prévoir que l'appareil phagocytaire réagit aussi vis-à-vis de toxines microbiennes libres; mais la preuve directe manquait, et cela parce que les toxines étant à la fois invisibles au microscope et inaccessibles au chimiste, leur sort ne pouvait guère être suivi dans l'organisme; quant aux injections d'extraits d'organes, faites pour déceler la présence des toxines, on conviendra que ce procédé est très imparfait : encore n'est-il pas toujours applicable.

L'étude des réactions leucocytaires vis-à-vis des toxines, comme cela a été fait par nous vis-à-vis de la toxine diphtérique ¹, faisait nettement entrevoir des rapports intimes entre les toxines et les leucocytes, sans permettre cependant d'affirmer leur caractère phagocytaire.

1. Ces *Annales*. Mai 1898.

Pour pénétrer plus avant dans l'intimité de ces rapports, le moyen le plus indiqué dans l'état actuel de nos connaissances était de renoncer aux toxines, tout en s'adressant à des substances qui leur ressemblent le plus sans en présenter les inconvénients. Le choix est tombé sur un composé soluble d'arsenic — acide arsénieux en solution alcaline — qui, outre sa toxicité élevée et d'autres points de ressemblance sur lesquels nous reviendrons, présente l'avantage d'être d'une sensibilité précieuse au point de vue chimique.

L'intérêt médico-légal attaché à l'étude des composés arsénicaux a fait que, de tous les poisons, l'arsenic est certainement celui qui possède la plus riche bibliographie; afin de restreindre autant que possible l'étendue de ce mémoire, nous renvoyons le lecteur à l'excellent livre ¹ de Ogier, où se trouve résumée toute l'histoire de l'arsenic.

Nous allons nous occuper ici seulement de deux questions : l'une porte sur les réactions leucocytaires dans les différentes formes d'intoxication arsénicale; l'autre, sur la faculté qu'ont les globules blancs d'englober ou plutôt d'absorber l'arsenic injecté à l'état soluble.

*
* *

§ 1. — Injectons à un lapin ou à un cobaye une dose d'acide arsénieux ² déterminant la mort *en moins de 24 heures*.

Que l'animal meure au bout de 2 heures ou qu'il meure au bout de 20 heures, le tableau de l'intoxication au point de vue leucocytaire est sensiblement le même. La différence dans ces cas se réduit à ceci : plus la dose est forte, plus rapidement arrive le stade hypoleucocytaire, et ce stade a des caractères d'autant plus tranchés que la mort arrive plus rapidement.

Pour donner une idée des phénomènes leucocytaires à la suite d'une dose tuant en moins de 24 heures, rapportons l'histoire d'un lapin choisi au hasard parmi les nombreux lapins et cobayes examinés dans les mêmes conditions.

Lapin de 1,920 grammes a présenté avant l'injection :

1. *Traité de toxicologie chimique*, 1899, Paris.

2. Nous nous sommes servi, au cours de toutes nos recherches, de la solution d'acide arsénieux au millième (1/1000), additionnée de poids égal de K_2CO_3 .

	Leucocytes.	Mononucl. 0/0	Polynucl. 0/0
à 9 h.	12.800	68	32
à 9 h. 20 il reçoit sous la peau 17 c. c. d'acide arsénieux à 1 0/00.			
à 11 h. 30	3.600	90	10
à 2 h. 30	1.000	95	5
à 4 h. 30	700	95	5
à 6 h. 30	2.000	93	7
à 9 h.	2.400	94	6

Il est trouvé mort le lendemain matin.

Nous nous bornons à ce seul exemple pour ne pas tomber dans les redites, car tous les animaux ayant subi le même genre d'intoxication réagissent, à quelques centaines de leucocytes près, d'une façon identique¹; c'est dire que, généralement, une ou deux heures après l'injection, le sang présente une hypoleucocytose se traduisant à la fois par une très forte diminution globale des leucocytes et par l'abaissement des polynucléaires qui, de 35 0/0 (moyenne normale), tombent à 10 0/0 — 5 0/0. Quant aux mononucléaires, qui font presque seuls les frais de l'hypoleucocytose, ils sont en majeure partie constitués par de petits lymphocytes.

En d'autres termes, l'intoxication rapide se caractérise par une chimiotaxie négative portant sur les éléments phagocytaires, polynucléaires et gros mononucléaires, laquelle chimiotaxie persiste jusqu'à la mort.

*
* *

§ 2. — Quand l'animal reçoit une forte dose, mais inférieure à la dose mortelle, il réagit tout autrement, comme en témoigne l'exemple suivant, pris également parmi les nombreux cas semblables enregistrés dans notre cahier d'expériences.

Lapin de 2,000 grammes reçoit, le 31 octobre, à 6 heures du soir, 10 c. c. d'acide arsénieux.

	Leucocytes.	Mononucl. 0/0.	Polynucl. 0/0.
Avant l'injection,	9.000	66	34
1 nov. à 10 h.	11.200	38	62
à 3 h.	19.000	30	70
2 nov. à 10 h.	18.000	33	67

1. Nous insistons particulièrement sur ce fait, car à propos de notre étude sur les réactions leucocytaires vis-à-vis de la toxine diphtérique, bien que nous ayons souligné que tous nos animaux réagissaient de la même façon vis-à-vis d'une dose déterminée de toxine, on nous a reproché d'avoir tiré nos conclusions d'un *seul* cas.

	Leucocytes.	Mononucl. 0/0.	Polynucl. 0/0.
2 nov. à 4 h.	20.000	30	70
3 nov. à 4 h.	9.300	50	50
4 nov. à 10 h.	11.600	50	50
5 nov. à 6 h.	16.000	50	50
6 nov. à 6 h.	7.000	60	40

Les jours suivants le sang avait la composition normale.

Il résulte de ces chiffres que, lorsque l'animal survit au poison injecté, les réactions leucocytaires sont diamétralement opposées à celles qui ont lieu dans l'intoxication mortelle.

Tandis que dans le cas précédemment examiné c'était l'hypoleucocytose qui dominait la situation, dans le cas présent c'est juste le contraire : nous constatons non seulement une augmentation globale des leucocytes, mais en plus un accroissement du taux des polynucléaires, qui de 34 0/0 s'élève à certains moments à 70 0/0.

Remarquons que l'exemple choisi n'est qu'un cas d'intoxication moyenne : déjà, au bout de deux jours, l'animal était complètement rétabli. Mais lorsque la dose est près de la mortelle et que l'animal, très éprouvé par l'inoculation, met 5 à 6 jours à se rétablir, le jeu des leucocytes atteint le plus haut degré de son activité, et à certains jours, surtout au début, il est donné de constater 30,000 leucocytes au lieu de 10,000 qui est la moyenne ordinaire, et avec cela 90 0/0 de polynucléaires au lieu de 35 0/0 à l'état normal.

Cette hyperleucocytose ne s'installe pas d'emblée après l'injection; elle est précédée d'un stade hypoleucocytaire dont la durée est en raison directe de la dose injectée, et dépasse rarement 10-12 heures, mais elle diffère essentiellement de l'hypoleucocytose à laquelle on assiste dans l'intoxication rapidement mortelle.

Cette différence est quantitative et qualitative : tout en diminuant, le chiffre total des leucocytes ne tombe jamais au degré observé dans les cas mortels; il se maintient généralement dans les environs de 4-5,000 par millimètre cube; en plus, et c'est là son caractère distinctif de première importance, au lieu d'être constituée par des lymphocytes, comme dans le cas précédent, l'hypoleucocytose de l'animal devant guérir se caractérise par une élévation des polynucléaires relativement à l'état normal;

c'est là même un signe précoce qui permet de prévoir dès les premières heures, sinon la guérison définitive de l'animal, du moins une survie, ne fût-ce que d'un ou plusieurs jours.

Ainsi, en cas de dose non mortelle, chimiotaxie négative rapidement remplacée par la chimiotaxie positive, toutes les deux phases ayant des caractères bien typiques.

*
* *

§ 3. — Nous connaissons maintenant les effets leucocytaires déterminés d'un côté par les doses tuant en moins de 24 heures, et d'autre côté par celles ne tuant pas du tout.

C'est le moment de parler des doses intermédiaires qui, tout en étant mortelles, ne tuent qu'au bout de quelques jours.

Comme il était à prévoir, les réactions leucocytaires, dans ce cas, empruntent certains caractères aux deux cas extrêmes que nous venons d'étudier.

	Leucocytes.	Mononucl. 0/0	Polynucl. 0/0
Un cobaye de 400 gr. reçoit à 10 h. 30 le 11 août 3,5 c. c. arsénieux à 1 0/00.			
Avant l'injection :	7.500	66	34
à 11 h. 40	1.400	76	24
à 5 h.	2.000	25	75
12 août à 10 h.	17.000	16	84
à 4 h. 20	9.000	23	75
13 août à 10 h. 20	7.000	27	73
à 4 h.	8.500	25	75
14 août à 10 h.	3.000	45	55
à 5 h.	1.800	50	50
15 août à 10 h.	600	90	10
à 6 h.	1.000	90	10

L'animal est mort à 9 h. du soir.

La mort est donc survenue le 5^e jour après l'injection. Nous voyons que, pendant les trois premiers jours, les choses se passent comme si l'animal devait guérir; en effet, nous constatons d'abord une hypoleucocytose initiale, ayant le caractère de celle des cas favorables, c'est-à-dire, une hypoleucocytose se formant en majeure partie par des polynucléaires; ensuite, nous constatons une hyperleucocytose qui se traduit surtout par une augmentation considérable du taux des polynucléaires (jusqu'à 84 0/0).

Remarquons seulement que, malgré ce tableau rassurant en apparence, l'observateur, pour peu qu'il soit habitué à ce

genre de recherches, se gardera bien de promettre une guérison, et voici pourquoi.

Déjà, en voyant une forte hypoleucocytose (2,000) persister encore au bout de sept heures après l'injection, il fera des réserves sur l'issue finale; le pronostic s'aggrave quand le lendemain et le surlendemain (le 12 et le 13 août), malgré la forte dose d'arsenic, on constate une faible réaction au point de vue des chiffres totaux des leucocytes (2,000; 7,000; 8,500).

Le doute n'est plus permis dès le commencement du 14 août, quand il se produit un revirement brusque dans les mouvements leucocytaires, quand leur nombre se met à baisser de plus en plus, les polynucléaires à devenir de plus en plus rares, et les petits lymphocytes à se mettre de plus en plus en relief. On retrouve finalement le tableau que nous avons appris à connaître en étudiant l'intoxication à marche rapide — c'est-à-dire l'hypoleucocytose avec la mort à brève échéance.

*
* *

Quelle que soit la dose injectée, on peut toujours ramener les réactions leucocytaires à un des trois types qui viennent d'être décrits.

On peut les résumer ainsi : la mort survient-elle en moins de 24 heures, l'animal réagit en hypoleucocytose; la survie est-elle définitive, il réagit en hyperleucocytose; enfin la survie n'est-elle que de quelques jours, l'animal réagit d'abord en hyperleucocytose, puis en hypoleucocytose mortelle.

Tels sont les faits réduits à leur expression la plus simple.

Pour ne pas quitter le terrain expérimental, nous nous bornons à les signaler sans les faire suivre d'aucune interprétation.

*
* *

§ 4. — Jusqu'ici nous avons fait varier la dose du poison; faisons maintenant varier l'animal d'expérience; au lieu d'expérimenter sur un animal neuf, prenons un animal accoutumé.

Ici une remarque s'impose. L'accoutumance à l'arsenic existe-t-elle?

Les expérimentateurs qui se sont occupés de l'arsénicisme sont unanimes à reconnaître qu'en ce qui concerne les animaux

du laboratoire, il n'y a point d'accoutumance, et même que les animaux, après plusieurs injections, deviennent plus sensibles et meurent souvent d'une dose d'arsenic inférieure à la dose mortelle.

Ceci est exact pour les conditions dans lesquelles se sont placés les auteurs; cela n'empêche pas que l'accoutumance à l'arsenic existe, et l'on peut la mettre en évidence même en injectant simplement plusieurs fois à l'animal des doses considérables, mais non mortelles d'arsenic; de cette façon on peut parvenir, très péniblement il est vrai, à faire supporter une dose tuant le témoin en 48 heures.

Mais il existe un procédé beaucoup plus expéditif qui conduit au même résultat. Pour ne pas faire dévier le sujet du présent travail, nous en donnerons la description dans le prochain mémoire, où nous traiterons de l'immunisation en général; pour le moment, disons seulement qu'il est possible de préparer l'animal de façon qu'il puisse supporter la dose mortelle pour le témoin dans les 48 heures qui suivent l'injection.

Comment se comportent les globules blancs dans ces cas?

L'expérience montre qu'ils se comportent exactement comme s'il s'agissait d'un animal neuf, soumis à une dose non mortelle d'arsenic.

Tandis que le témoin du même poids réagit ou en hypoleucocytose seule ou en hyperleucocytose passagère suivie d'hypoleucocytose, selon la quantité d'arsenic, le lapin préparé réagit tout différemment: après une hypoleucocytose ayant le caractère de celle qu'on observe dans le cas de dose non mortelle (§ 2) vient s'établir un stade hyperleucocytaire très prononcé qui dure plusieurs jours; puis tout rentre dans l'ordre, le sang reprend sa constitution normale.

Voici des chiffres traduisant cette réaction d'un animal préparé lors d'une injection d'une dose mortelle; le caractère de cette réaction est calqué sur celui étudié déjà (§ 2) dans le cas de survie définitive.

Lapin de 2,020 grammes reçoit le 4 novembre à 3 h. 20, 14 c. c. de la solution d'acide arsénieux à 1/1000 qui a tué le témoin en 36 heures.

Avant l'injection.	Leucocytes.	Mononucl. 0/0.	Polynucl. 0/0.
4 nov. à 2 h. 20	40.400	67	33
à 4 h. 20	4.800	74	26
à 5 h. 50	4.500	25	75

Avant l'injection.	Leucocytes.	Mononucl. 0/0.	Polynucl. 0/0.
5 nov. à 9 h.	22.400	18	82
à 2 h.	12.600	16	84
à 6 h.	16.500	21	79
6 nov. à 9 h.	19.600	19	81
à 2 h. 40	13.300	30	70
à 7 h.	14.000	25	75
7 nov. à 9 h.	12.800	45	55
à 2 h.	16.700	36	64
8 nov. à midi	11.000	50	50

Les jours suivants la composition du sang est revenue à l'état normal.

Ce fait que deux animaux — un neuf, l'autre accoutumé — réagissent différemment vis-à-vis d'une même dose d'arsenic, nous fait conclure que le jeu des leucocytes ne relève qu'indirectement de la quantité du poison, mais qu'en réalité il est commandé par la résistance que l'animal oppose au poison. De plus, la nature des réactions leucocytaires chez le lapin neuf et l'accoutumé nous apprend que la résistance de l'animal est d'autant plus efficace que les leucocytes, et en particulier, les polynucléaires sont plus nombreux dans le sang et qu'ils y séjournent plus longtemps.

*
* *

C'est là une conclusion qui découle directement des faits; mais loin de satisfaire l'esprit, elle soulève au contraire de nouvelles questions. Comment, en effet, l'animal parvient-il à résister au poison par le seul fait de la présence dans le sang de nombreux leucocytes?

Peut-être, avons-nous pensé, les leucocytes, mobilisés en si grand nombre, ne se contentent-ils pas d'un rôle purement passif, et après avoir répondu à l'appel chimiotactique de l'arsenic, contractent-ils avec ce dernier des rapports favorables à la survie de l'animal.

Cette idée devait naturellement venir à l'esprit, surtout après l'étude que nous avons faite sur le trisulfure d'arsenic¹, mais autant il était facile d'en faire la démonstration pour une poudre rouge brun et presque insoluble, autant il est difficile de le faire quand il s'agit d'une substance incolore et soluble. Le problème devient encore plus difficile si on tient compte de la toxicité

1. Ces *Annales*. Janvier 1899.

beaucoup plus élevée de l'arsénite de potasse comparativement au trisulfure, d'où la nécessité de travailler avec de très petites quantités de substance.

Toutes ces difficultés peuvent cependant être surmontées comme nous le verrons plus bas : disons d'ores et déjà que les expériences ont montré de la façon la plus nette que, dans le stade hyperleucocytaire, les globules blancs absorbent l'arsenic injecté à l'état soluble exactement comme nous les avons vus englober le trisulfure d'arsenic, comme nous les voyons journellement englober les microbes.

II

§ 1. — A défaut des réactions microchimiques permettant d'analyser chaque cellule isolément, nous nous sommes efforcés de réunir un grand nombre de leucocytes pouvant former une masse de matière, justiciable d'une analyse chimique macroscopique.

A cet effet, nous avons eu recours à deux procédés, tous les deux également bons : le premier consiste à déterminer chez les lapins une série d'abcès froids pendant qu'ils sont en traitement arsénical; le second, à séparer du sang la couche leucocytaire par centrifugation pendant que l'animal traverse la phase hyperleucocytaire.

Entrons maintenant dans les détails.

En ce qui concerne le premier procédé qui est encore inédit, c'est M. Borrel, son auteur, qui nous a très obligeamment fourni toutes les indications nécessaires. Lorsqu'on injecte sous la peau des lapins des cultures mortes de tuberculose, et que l'on répète ces injections plusieurs fois à des intervalles de 8-10 jours, on obtient finalement des abcès se développant avec une rapidité surprenante, et atteignant les dimensions de grosses noix.

L'opération dure quelquefois deux mois, car les premiers abcès mettent longtemps à venir; mais l'évolution des abcès intérieurs devient de plus en plus rapide à mesure que l'animal s'y habitue.

Pendant la formation de ces abcès, nous injectons tous les 3-4 jours, sous la peau ou dans le sang, de petites quantités

d'acide arsénieux, de façon que l'animal en demeure toujours imprégné sans cependant présenter de l'intolérance.

Le contenu de l'abcès obtenu dans ces conditions révèle la présence de l'arsenic.

Cet arsenic est dû nécessairement aux éléments figurés, aux leucocytes dont est rempli l'abcès; ce dernier étant d'une consistance caséuse épaisse, sans traces de liquide, il faut naturellement écarter l'idée du transport de l'arsenic par les humeurs. Cette dernière hypothèse devient d'autant plus insoutenable que le sang examiné en même temps, même à poids plus élevé, ne contient pas la moindre trace d'arsenic ¹.

La quantité d'arsenic n'était pas dosable; cela est dû d'abord à la petitesse des doses injectées; puis, probablement, à l'état même des leucocytes du contenu de l'abcès; ceux-ci étaient pour la plupart déjà morts, ce qui, combiné à la durée de la formation de l'abcès, fera comprendre qu'une partie de l'arsenic absorbé par les leucocytes vivants pouvait bien abandonner les globules morts et être éliminée par les voies ordinaires.

Ceci explique pourquoi des grammes entiers de leucocytes ne donnent que fort peu d'arsenic; mais le fait essentiel n'en reste pas moins bien établi, c'est qu'une masse déterminée de leucocytes contient de l'arsenic, tandis qu'une masse égale et même double du sang en est complètement dépourvue.

*
* *

§ 2. — Le second procédé auquel nous nous sommes adressé a l'avantage d'être circonscrit dans le temps, mais en revanche la masse leucocytaire qu'il fournit est inférieure à celle fournie par les abcès.

Trois ou quatre lapins ayant supporté la dose mortelle (les détails en seront exposés dans le chapitre sur l'immunisation) sont saignés à blanc 4 ou 5 jours après l'injection, au moment, par conséquent, où ils sortent de l'hyperleucocytose.

Afin de rendre le sang incoagulable, on leur injecte, quelques minutes avant la saignée, de l'extrait de sangsues; par surcroît de précautions, le sang est recueilli dans un ballon contenant

1. Dans un cas, 8 grammes du contenu caséux ont donné un anneau net d'arsenic métallique, tandis que 15 grammes du sang du même animal examiné en même temps n'en contenaient pas de traces.

au fond du citrate de soude (5 0/00). Dans ces conditions il reste longtemps incoagulable.

Après une centrifugation de deux heures on voit se former, entre le plasma jaune clair et les globules rouges occupant la partie inférieure du tube, une mince couche de leucocytes se présentant sous forme de pellicule blanche se détachant facilement des globules rouges sous-jacents.

Comme il est difficile d'isoler la couche leucocytaire seule sans que les globules rouges ou un peu de plasma ne soient aussi entraînés, ce qui d'ailleurs n'a pas d'importance, il nous est impossible d'évaluer le poids de la masse leucocytaire ainsi obtenue : elle ne doit pas dépasser un ou deux grammes au plus.

Après avoir retiré du sang centrifugé les leucocytes, on y prélève 15 à 20 grammes de plasma et autant de globules rouges.

Ces trois portions sont alors soumises à l'analyse chimique.

Avant d'exposer les détails de cette analyse, constatons que, répétée plusieurs fois, cette expérience nous a permis de confirmer le fait que nous avons vu déjà en nous servant du premier procédé : *bien que la masse du plasma et des globules rouges fût beaucoup supérieure à celle des leucocytes, c'est dans cette dernière uniquement que nous avons trouvé de l'arsenic*; comme dans le premier cas, ici aussi l'arsenic obtenu n'était pas dosable¹.

Dans la longue série des lapins que nous avons soumis à cette expérience, il s'en trouva quelques-uns dont les leucocytes ne renfermaient pas d'arsenic, pas plus d'ailleurs que leur plasma ou les globules rouges. Quelle en est la cause, nous l'ignorons; remarquons seulement, à titre d'indication, que, dans un cas pareil où nous avons examiné le sérum, nous l'avons trouvé dépourvu des propriétés curatives propres en général au sérum des lapins mis dans les mêmes conditions; nous reviendrons sur ce sujet en parlant du sérum des animaux immunisés.

*
* *

§ 3. — Ainsi, des expériences qui viennent d'être décrites, il ressort que, lorsque l'animal est préparé de façon à survivre à la

1. Tout récemment M. Stassano a fait une constatation analogue pour le mercure; après avoir injecté à un chien du sublimé, il a vu que seuls les leucocytes en contiennent à l'exclusion d'autres parties du sang, à poids égaux.

dose mortelle, ses leucocytes contiennent de l'arsenic ; lorsqu'il n'est pas préparé et meurt en 24 ou 48 heures, son sang et *a fortiori* ses leucocytes ne contiennent pas d'arsenic après la mort, comme nous le savons, entre autres, par le travail de G. Brouardel¹.

En raison des réactions leucocytaires ayant lieu dans l'un et l'autre cas, il faut conclure que la présence de l'arsenic dans les leucocytes est liée au seul stade d'hyperleucocytose, suivie de guérison de l'animal.

Dès lors, les réactions leucocytaires que nous avons étudiées au commencement de ce travail nous apparaissent sous un jour nouveau. Nous avons vu que d'une façon générale la mort se traduit par une hypoleucocytose avec absence presque complète des éléments phagocytaires ; la vie, au contraire, se caractérisait par une chimiotaxie positive qui porte dès les premières heures sur les polynucléaires : dans ce dernier cas, les leucocytes accoutumés ne fuient pas devant le poison ; tout au contraire, attirés positivement, ils englobent l'arsenic et l'empêchent ainsi de diffuser dans l'organisme, d'où survie de l'animal.

En d'autres termes, la vie est corrélative de la phagocytose du poison, tandis que l'absence de la phagocytose est corrélative de la mort.

Cette formule, toute théorique qu'elle paraisse être, n'est que l'aboutissant logique des faits exposés.

On arrive à la même conclusion par une voie d'ordre tout à fait différent, mais aussi expérimentale.

Il est hors de doute que les composés arsénicaux sont des poisons du système nerveux par excellence, et si l'animal s'en intoxique, c'est que ses cellules nerveuses sont mises en contact avec l'arsenic, en un mot fixent l'arsenic.

Il s'ensuit donc que la dose minima mortelle pour un lapin, par exemple, est celle qui le tue, étant mise en contact direct avec ses cellules les plus sensibles.

Il se trouve que cette dose minima injectée dans le cerveau doit être au moins centuplée pour déterminer le même effet en injection sous-cutanée.

Cela prouve que, lors de l'injection sous-cutanée, la majeure partie de l'arsenic reste en route. C'est évidemment dans le sang

1. De l'arsénicisme, *Thèse de Paris*, 1897.

surtout, où l'arsenic arrive aussitôt après l'injection, et d'où il disparaît dans les organes en totalité quand rien ne s'y oppose, que réside l'agent empêchant le transport du poison au système nerveux central; et parmi les éléments du sang, *a priori*, il n'y a que les globules blancs qui soient capables d'intercepter en route le poison.

Cette interception de l'arsenic, nous venons de le voir, n'est autre que l'acte phagocytaire auquel l'animal doit d'avoir survécu.

Avec le concours de M. Borrel, nous avons déterminé que le lapin inoculé dans le cerveau meurt de la dose 100 fois inférieure à celle qui tue en injection sous la peau; ainsi, pour tuer un lapin de deux kilogrammes, il a suffi d'injecter dans le cerveau 1/10 c. c. d'une solution qui tuerait le même lapin dans le même espace de temps (48 heures) en quantité de 10 c. c.; ajoutons que les phénomènes d'intoxication (diarrhée, dégénérescence graisseuse des organes et autres) sont exactement les mêmes dans les deux cas.

*
* *

§ 4. — Pour compléter cette étude, il nous reste à décrire succinctement le procédé opératoire ayant servi à la recherche de l'arsenic dans les différentes portions du sang, aussi bien que dans les organes, au cours des expériences exposées dans le premier mémoire.

La substance à examiner, si c'est un organe, est coupée en morceaux aussi menus que possible, additionnée d'eau et réduite à la consistance d'une bouillie peu épaisse. On y ajoute du chlorate de potasse cristallisé, en quantité égale environ au huitième du poids des matières primitives; le tout est mis dans un ballon dans lequel on fait arriver l'acide chlorhydrique à l'état gazeux. Ce dernier, à mesure qu'il arrive dans le ballon, s'y dissout jusqu'au moment où l'acide ainsi formé acquiert une concentration suffisante pour réagir sur le chlorate de potasse. Les gaz chlorés qui résultent de la décomposition du chlorate agissent donc à l'état naissant sur la masse contenue dans le ballon, et à la fin de l'opération, si elle est bien conduite, on obtient un liquide jaune clair, au milieu duquel nagent des matières grasses échappées à la destruction; ces dernières, après des lavages répétés, sont séparées du liquide qui désormais fait seul l'objet des traitements ultérieurs.

Comme il contient un excès de chlore, on l'en débarrasse au moyen d'un courant d'acide sulfureux gazeux, qui a en plus ce précieux avantage de réduire l'acide arsénique à l'état d'acide arsénieux — ce qui rend plus rapide la précipitation ultérieure par l'hydrogène sulfuré.

Le liquide ainsi traité contient maintenant un excès d'acide sulfureux que l'on chasse par l'évaporation au bain-marie pendant 15-20 minutes environ ; c'est alors qu'on fait passer dans le liquide, encore chaud et privé d'odeur d'acide sulfureux, un courant d'hydrogène sulfuré pendant 12 heures environ.

Le précipité qui se forme au bout de ce temps, composé de soufre, des matières organiques soufrées et du sulfure d'arsenic (s'il y en a), et recueilli sur un filtre, est traité par l'ammoniaque qui dissout le trisulfure d'arsenic et en partie le soufre.

La solution ammoniacale filtrée est évaporée au bain-marie, et le résidu sec est oxydé par l'acide nitrique et chauffé de nouveau au bain-marie jusqu'à siccité.

Il s'agit maintenant de chasser les dernières traces d'acide azotique qui est fort nuisible pour l'opération ultérieure ; on ajoute à cet effet de l'acide sulfurique concentré en présence duquel on chauffe le liquide d'abord au bain-marie, puis au bain de sable jusqu'à l'apparition des vapeurs blanches d'acide sulfurique.

La solution ainsi préparée et étendue d'une quantité considérable d'eau est prête à être mise dans l'appareil de Marsh, sur lequel nous croyons inutile d'insister.

*
* *

Avant de résumer les points isolés de ce travail, il ne sera pas peut-être inutile de mettre en relief l'enseignement d'ordre général qui se dégage de l'ensemble des faits exposés dans la première partie.

Nous savons que M. Buchner admet bien la chimiotaxie des leucocytes, mais la considère comme indissolublement liée à la présence des microbes dégénérés ou des substances protéiques en général, et comme indépendante de la réaction de l'organisme souffrant.

On voit d'ici la divergence fondamentale qui sépare M. Buchner des partisans de la phagocytose.

Nos expériences ont montré que point n'est besoin de faire intervenir les protéines pour déterminer une chimiotaxie positive: les phénomènes n'ont effectivement changé en rien, malgré le remplacement des protéines de M. Buchner par une substance aussi peu protéique que l'acide arsénieux.

Ce ne sont donc pas les protéines, ni en général les poisons qui envahissent l'organisme, qui commandent la chimiotaxie, mais c'est l'organisme lui-même qui règle les mouvements leucocytaires selon la réaction qu'il oppose au poison, que celui-ci soit d'origine protéique ou qu'il soit de nature minérale; la chimiotaxie positive est toujours l'indice d'un acte de défense contre le danger d'intoxication; ceci a été surabondamment prouvé par l'étude des détails que nous allons maintenant résumer.

*
* *

Nous avons vu que les réactions des leucocytes varient essentiellement suivant la résistance que présentent les animaux: elles sont donc variables selon la dose du poison et selon que les animaux sont neufs ou accoutumés au poison.

Ces réactions portent non seulement sur la quantité des leucocytes, mais encore sur leur qualité.

Quelle que soit la dose d'arsenic, on observe toujours après l'injection un stade d'hypoleucocytose, qui tantôt persiste jusqu'à la mort, tantôt est remplacée par l'hyperleucocytose.

Dans l'intoxication par l'acide arsénieux, il y a lieu de distinguer trois types de réactions leucocytaires: *a)* l'animal meurt en moins de 24 heures; *b)* l'animal survit définitivement; *c)* la survie ne dure que quelques jours.

a) Dans l'intoxication du premier type, déjà une heure après l'injection il s'établit une hypoleucocytose nette.

Les chiffres des leucocytes diminuent progressivement et d'autant plus rapidement que la dose a été plus forte.

Au point de vue qualitatif, cette hypoleucocytose se traduit par une diminution caractéristique des polynucléaires: à l'état normal le rapport entre les poly- et mononucléaires est chez le lapin de 1:2; ici il est réduit à 1:9 et même jusqu'à 1:19.

La majeure partie des leucocytes dans ce stade sont des petits lymphocytes.

b) L'animal survit définitivement. Ici deux cas peuvent se

présenter : ou l'animal a reçu une dose non mortelle, ou bien il a reçu une dose mortelle, mais la supporte à la faveur d'une préparation préalable.

Dans un cas comme dans l'autre, l'injection est suivie d'hypoleucocytose, dont le degré et la durée sont en rapport avec la dose et la résistance individuelle de l'animal.

Cette phase, pendant laquelle l'animal est visiblement malade, ne tarde pas à céder place à l'hyperleucocytose, qui dure plusieurs jours et coïncide avec le rétablissement de l'animal.

La réaction porte ici aussi non seulement sur le nombre absolu, mais encore sur la qualité des leucocytes.

Déjà au stade d'hypoleucocytose on observe une tendance des polynucléaires à affluer de plus en plus dans le sang, et ils y deviennent extrêmement nombreux dès que l'hyperleucocytose s'installe franchement.

c) Dans le cas où l'animal n'a qu'une survie passagère, on observe trois stades successifs : une hypoleucocytose accentuée d'abord, une hyperleucocytose avortée ensuite, et finalement une hypoleucocytose mortelle du premier type.

L'analyse chimique des leucocytes dans les différents cas montre que ceux-ci contiennent l'arsenic seulement dans le stade hyperleucocytaire, accompagné de survie.

On n'en trouve jamais après la mort survenue 24 ou 48 heures après l'injection, c'est-à-dire au stade hypoleucocytaire.

L'hyperleucocytose ou la chimiotaxie positive est donc accompagnée d'englobement ou de l'absorption du poison, et de la survie de l'animal.

Il existe donc, à l'égard d'un produit toxique soluble, une phagocytose ayant exactement le même caractère que pour les microbes ou poisons insolubles.

*
* *

Dans le prochain mémoire, nous étudierons les faits consécutifs au séjour de l'arsenic dans l'intérieur des leucocytes ; nous traiterons notamment des propriétés préventives et antitoxiques du sérum des animaux immunisés.

LE

MÉCANISME DE L'AGGLUTINATION

PAR LE D^r JULES BORDET

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Le terme de « phénomène de l'agglutination » désigne habituellement ce fait que, sous l'influence du sérum spécifique, les microbes en suspension homogène dans un liquide tel que le bouillon ou la solution de NaCl à 0.7 0/0, se réunissent en flocons qui bientôt se déposent au fond du vase. Nous avons fait connaître en 1895 le premier exemple de ce phénomène, en montrant que les vibrions cholériques, délayés dans l'eau physiologique, s'immobilisent sous l'action d'une dose même faible de choléra-sérum, soit frais, soit chauffé préalablement à 55° ou 60°, et s'agglomèrent rapidement en amas flottants dans le liquide ¹.

Ce fait de l'agglutination doit être considéré à des points de vue divers. En premier lieu, il doit être étudié en lui-même, indépendamment de sa signification physiologique. Envisagée sous cet aspect, l'étude de l'agglutination touche aux domaines de la physique et de la chimie. Elle rentre dans le cadre de la physiologie, lorsqu'elle cherche à préciser la signification du phénomène dans l'immunité, à savoir s'il joue un rôle dans la défense des organismes, à connaître les cellules capables de sécréter les substances qui se déversent dans le sérum et lui communiquent ses propriétés particulières.

C'est la question du mécanisme de l'agglutination qui fera le sujet du présent travail, et nous exposerons tout de suite les théories principales qui ont été proposées pour expliquer le phénomène. Nous ferons immédiatement une remarque, c'est que, pour satisfaire l'esprit, toute théorie de ce genre doit avoir

1. Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les animaux vaccinés. Ces *Annales*, 1895, p. 496 et 498.

une portée suffisamment générale et ne point se borner à nous faire comprendre seulement l'agglutination subie par les microbes. Ceux-ci ne sont point en effet les seuls éléments susceptibles de s'agglomérer sous l'action d'un sérum. Nous avons pensé qu'il fallait rapprocher, de l'agglutination des microbes, celle que présentent les globules rouges sous l'influence d'un sérum provenant d'un animal d'espèce différente. Nous avons montré de plus qu'on pouvait, à la suite d'injections répétées de sang défibriné, obtenir un sérum spécifique doué, vis-à-vis des globules, de propriétés agglutinantes d'une grande énergie ¹. Toute explication doit donc, pour être acceptable, s'appliquer aussi bien à l'agglutination des globules qu'à celle des microbes, et même — comme le lecteur le verra plus loin — à celle que peuvent subir les particules de caséine en suspension dans le lait.

Cette observation faite, voici, par ordre chronologique, les diverses hypothèses qui ont été proposées :

1^o *Hypothèse de Gruber*. — M. Gruber admet que l'agglutinine altère assez profondément la substance du microbe. Elle aurait pour effet de rendre visqueuse la membrane du microorganisme. Cet état visqueux spécial de leur couche périphérique amènerait l'adhérence des microbes les uns aux autres et expliquerait leur réunion en amas cohérents.

Cette conception permet bien de comprendre comment les microbes, dès qu'ils sont réunis, continuent à rester associés, mais elle n'indique guère pourquoi ils vont les uns vers les autres pour constituer des amas. Elle donne, dans l'explication du fait, une importance très grande, et même *tout à fait exclusive*, à la *structure organisée* des éléments susceptibles de s'agglutiner, sans supposer même qu'une part au moins du phénomène pourrait bien être sous l'empire de lois physiques. Comme elle repose entièrement sur l'existence d'un changement de la membrane, d'un gonflement accompagné de la production d'une matière adhésive, elle *n'explique pas l'agglutination de particules inorganisées*, de parcelles de matière minérale par exemple. Elle interdit donc tout rapprochement du phénomène de l'agglutination des microbes, avec celui de l'agrégation en flocons des précipités chimiques qui se produisent au sein d'un liquide.

1. Sur l'agglomération et la dissolution des globules rouges par le sérum. Ces *Annales*, 1898, p. 886.

2^e *Hypothèse de Bordet.* — L'idée que nous nous faisons du phénomène en 1896 correspond à une tendance tout à fait opposée. Nous avons eu l'impression, en observant l'agglutination du vibron cholérique sous l'influence du sérum actif, qu'il s'agissait d'une action où les microbes ne jouaient qu'un rôle passif, où leur vitalité n'entrait pas en jeu. L'immobilisation rapide qu'ils subissaient, l'existence de l'agglutination chez les globules rouges, éléments inertes, faisaient exclure le concours de la motilité. Le fait de la passivité des microbes nous fut démontré lorsque nous vîmes l'agglutination porter sur des microbes morts. D'autre part, l'hypothèse de M. Gruber suscitant certaines objections que nous rappelons plus loin, il nous parut que le fait de l'agglutination « rentrait plutôt dans le cadre de la physique moléculaire. Des influences légères suffisent à produire l'aggrégation de précipités chimiques qui auparavant restaient disséminés dans une liqueur. Il est probable que le sérum, en agissant sur les microbes, *change les relations d'attraction moléculaire entre ces microbes et le liquide ambiant*¹. »

Il est clair que cette interprétation ne comportait, pas plus que celle de M. Gruber, une explication vraiment intime du phénomène. Elle se bornait à faire un rapprochement entre les particules de nature très différente, — microbes, globules, précipités chimiques — qui peuvent se trouver en suspension dans les liquides et sont susceptibles de s'agréger en amas sous l'influence de certaines causes. A l'encontre de la conception de M. Gruber, cette manière de voir impliquait l'existence d'analogies dans le processus de l'agglutination, quelle que fût la nature des éléments qui la subissaient; elle admettait l'ingérence dans le phénomène, à titre prédominant, des lois de la physique.

Il faut cependant bien s'entendre. L'hypothèse signifie-t-elle que sous l'influence de l'agglutinine, *et dans toutes les phases du phénomène*, les microbes se comportent comme des particules de nature quelconque? Évidemment non. Les agglutinines sont spécifiques; il n'y a pas non plus le moindre doute qu'elles n'agissent directement sur les microbes; ceux-ci, en effet, ainsi qu'on a pu le voir dès les premières constatations du phénomène, s'immobilisent rapidement sous leur influence. Dans le premier temps du phénomène, l'action de l'agglutinine tient compte — il

1. Mode d'action des sérums préventifs. Ces *Annales*, avril 1896.

est à peine nécessaire d'y insister — de la nature biologique, de la constitution organisée spéciale de l'élément qu'elle impressionne : elle en tient tellement compte qu'elle porte sur certains microbes et pas sur d'autres. Mais il suffit, pour que, ultérieurement, les microbes atteints se réunissent en amas, que la substance active ait produit des modifications pouvant être légères, se bornant à changer les rapports d'adhésion moléculaire entre les microbes et le liquide. Dès lors, d'après l'hypothèse dont il s'agit, la nature biologique des éléments n'interviendrait plus ; les microbes s'agglutineraient désormais suivant des lois physiques applicables aussi à certaines particules non organisées qui s'agglomèrent — sans qu'il soit par conséquent nécessaire d'invoquer, pour expliquer la formation d'amas et l'adhérence des microbes, la présence d'une matière adhésive, de membranes collantes et visqueuses. L'hypothèse de M. Gruber exclut la participation des lois physiques ; la seconde les fait largement intervenir, au moins dans la phase du phénomène où les microbes encore épars, mais qui viennent d'être touchés par l'agglutinine, se réunissent pour présenter le tableau de l'agglutination.

Ces deux hypothèses formulées au début des études sur l'agglutination ne pouvaient alors s'étayer sur une base solide. Les faits manquaient. Une notion expérimentale importante fut apportée par M. Kraus.

M. Kraus¹ montra que si l'on mélange du sérum d'animaux vaccinés contre le vibrion cholérique, avec une culture filtrée et limpide de ce vibrion, il se produit un précipité au sein du liquide. Cette réaction est spécifique et ne se produit pas si, au lieu de choléra-sérum, on emploie un autre sérum quelconque. Le précipité formé possède la propriété de s'agglomérer bientôt en flocons dont l'aspect rappelle celui que présentent de véritables flocons de microbes agglutinés. M. Kraus montra que le même fait se constate encore pour d'autres microbes (fièvre typhoïde) et pour d'autres sérums.

Disons tout de suite que ces expériences semblaient *a priori* corroborer la seconde des deux hypothèses que nous venons de rappeler. Elles semblaient plaider nettement au contraire contre

1. KRAUS, K. K. Gesellschaft der Aerzte in Wien, 30 avril 1897 ; et *Wiener klinische Wochenschr.* 12 August 1897, n° 32.

l'hypothèse de M. Gruber, laquelle reconnaît, pour cause unique à l'agglutination, une modification de structure de l'élément organisé. Elles montraient en effet qu'on peut obtenir des phénomènes de précipitation floconneuse rappelant beaucoup la véritable agglutination, en mélangeant à du sérum un liquide contenant non plus des microbes organisés, mais simplement des matériaux provenant de la désintégration microbienne. Le fait observé par M. Kraus paraissait donc tendre à faire écarter la théorie formulée par M. Gruber.

3^e *Hypothèse de Nicolle* ¹. — Telle n'a pas été cependant l'impression de M. Nicolle. M. Nicolle a confirmé les résultats obtenus par Kraus, et il admet que l'agglutinine précipite la substance agglutinable (ou agglutinée) des microbes ². Il admet encore que cette matière agglutinable, laquelle peut dans les vieilles cultures se diffuser dans le liquide ambiant, se trouve en abondance dans la membrane ou la couche périphérique des microbes, lorsque ceux-ci sont jeunes et en bon état.

Cette couche périphérique, renfermant la substance que l'agglutinine est capable d'atteindre et de précipiter, devient elle-même sensible à l'influence de l'agglutinine; sous l'action de cette dernière, cette couche externe du microbe « se gonfle, devient apparente, et se soude à la couche externe des individus voisins. Notre opinion sur la nature intime du phénomène de l'agglutination se rapproche donc tout à fait de celle émise par M. Gruber, et que, seul, M. Roger a défendue après lui. Nous pensons que l'agglutination consiste dans la coagulation et la coalescence des couches externes des microbes agglutinables sous l'influence du sérum agglutinant³ ».

On le voit, M. Nicolle rattache, raccorde, l'expérience de M. Kraus à la théorie de Gruber. Mais le raccord ainsi établi, le trait d'union ainsi posé, et dont dépend toute la valeur de l'idée, est justement le point faible du raisonnement, celui qui échappe un peu à la compréhension. Pourquoi en effet la précipitation d'une substance agglutinable au sein de la couche externe du

1. Ces *Annales*, mars 1898.

2. Ceci est plus que la simple traduction, en langage courant, de l'expérience même de M. Kraus; la phrase signifie qu'il faut admettre — un peu hâtivement peut-être — que la substance précipitée est vraiment celle qui joue le grand rôle dans l'agglutination des microbes, qui, en d'autres termes, représente chez le microbe l'élément sensible à l'agglutinine.

3. *Loc. cit.*, p. 191.

microbe (précipitation dont nous ne voulons pas nier hâtivement l'existence) amènerait-elle un gonflement, une viscosité capable d'assurer la coalescence, la soudure des couches externes des microbes en présence ?

Quoi qu'il en soit, cette interprétation est aussi peu soucieuse que celle de M. Gruber, avec laquelle elle se fusionne, de faire intervenir, dans l'explication du fait, la notion de lois physiques, de lois d'adhésion moléculaire. Elle ne prévoit pas davantage la possibilité d'un rapprochement entre le fait de l'aggrégation de certains précipités chimiques et le fait de l'agglutination microbienne, car elle repose exclusivement, pour l'explication complète du phénomène, sur l'existence d'une membrane, d'une couche externe ou d'une tunique ciliée susceptibles de gonflement et de soudure.

Dans son mémoire paru dans ces *Annales*, M. Nicolle décrit une expérience assurément curieuse. M. Nicolle montre que le précipité provoqué par le sérum actif dans le filtrat de culture a la propriété d'entraîner dans son agglomération des particules inertes préalablement ajoutées au liquide, de la poudre de talc par exemple, qui se réunit ainsi en amas.

L'expérience a son intérêt, mais nous pensons néanmoins qu'on ne peut lui attribuer aucune importance réelle dans l'explication du phénomène de l'agglutination, dont elle ne nous donne qu'une image factice. Ces particules de talc qui s'agglomèrent sont entraînées mécaniquement les unes vers les autres, englobées et charriées par un précipité en voie d'aggrégation. Accorder de l'importance à ce phénomène non spécifique, dont la ressemblance avec la vraie agglutination paraît *a priori* superficielle, équivaldrait forcément, — et alors nous nous trouverions en présence d'une interprétation nouvelle — à admettre que l'agglutination proprement dite est due, elle aussi, à ce qu'il se forme un précipité extramicrobien qui se rétracte et s'agglutine, enserrant et englobant les microbes, les forçant ainsi à se rapprocher et finalement à adhérer les uns aux autres. De fait, cette opinion a été émise par M. Paltauf¹ antérieurement au travail de M. Nicolle. M. Dineur, dans un mémoire récent², la discute; il la combat d'ailleurs à l'aide d'arguments

1. PALTAUF, *Wiener Klin. Wochenschrift*, 1897.

2. DINEUR, Recherches sur le mécanisme de l'agglutination du bacille typhique. — *Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique*, 1898, p. 652.

appropriés. Nous avons à citer cette idée dans la liste des hypothèses émises :

4^o *Hypothèse de Paltauf.* — L'agglutination des microbes serait due à ce que ceux-ci sont entraînés mécaniquement dans les mailles d'un coagulum né dans le liquide ambiant, en dehors des microbes, et dû à la réaction de l'agglutinine sur la matière microbienne agglutinable.

5^o *Hypothèse de Dineur.* — Pour M. Dineur, l'agglomération serait due à la formation d'une matière adhésive assurant l'adhérence des microbes entre eux. Mais cette matière adhésive se formerait spécialement sur les cils. Aussi M. Dineur attribue-t-il à la présence de cils une importance tout à fait essentielle dans l'agglutination. Celle-ci serait produite par l'adhésion et l'enchevêtrement des cils.

*
* *

Nous avons passé en revue, dans les pages précédentes, les diverses interprétations proposées, en insistant sur leur signification précise et sur leurs tendances. Mais nous avons à peine effleuré les faits expérimentaux qui les corroborent ou les font révoquer en doute. C'est l'examen de ces faits que nous allons aborder. Ils sont aujourd'hui assez nombreux pour permettre une discussion suffisamment documentée des diverses théories.

Parmi les interprétations émises, il en est qui manifestement, et sans qu'il soit besoin d'un examen prolongé, ne s'accordent pas avec les faits. Telle est l'idée de M. Dineur qui attribue une importance capitale à l'existence de cils. Une opinion semblable ne saurait satisfaire, attendu qu'on constate l'agglutination de microbes dépourvus de cils et même celle d'éléments (globules rouges, particules de caséine) moins suspects encore de posséder de pareils appendices.

Il est vrai que M. Dineur insiste également sur la production — sous l'influence de l'agglutinine — d'une substance adhésive permettant la réunion des microbes en amas. Il se rallie en cela à l'interprétation de M. Gruber que nous abordons plus loin.

L'interprétation de M. Paltauf, qui explique l'agglutination des microbes par la rétraction d'un précipité (précipité de Kraus), né au sein du liquide et susceptible d'entraîner les microbes dans sa propre agrégation, se heurte à des objections graves. D'abord ce phénomène de précipitation de Kraus n'est pas absolument constant; quand il existe, le précipité n'est jamais bien abondant et se produit avec une lenteur telle, qu'on peut difficilement le considérer comme préexistant à l'agglutination si énergique et si rapide des microbes, comme en étant la cause déterminante. De plus, les observateurs n'ont pu jusqu'ici, en examinant des microbes agglutinés, déceler autour d'eux l'existence d'un coagulum. M. Dineur n'y a point réussi malgré ses efforts répétés: il fait remarquer avec raison que si ce coagulum existait, s'il englobait réellement les microbes, on aurait bien des chances de le mettre en évidence, puisqu'il se colore, ainsi que M. Nicolle l'a montré, par les couleurs basiques.

D'autres remarques encore peuvent être présentées. Des lapins qui ont reçu plusieurs injections intrapéritonéales de sang défibriné de poule, fournissent un sérum doué, vis-à-vis des globules rouges de poule, d'un pouvoir agglutinant et dissolvant énergique. Mais ce sérum actif possède encore une autre propriété. Mélangé au sérum de poule, il fait naître dans ce liquide un précipité qui, assez lentement, devient abondant et s'agglomère en flocons. Cette propriété que possède le sérum des animaux traités de produire un précipité dans un sérum identique à celui qu'on leur a injecté, a été constatée, pour la première fois, par M. Tchistovitch, à l'Institut Pasteur, au cours de recherches récentes. M. Tchistovitch a observé que le sérum de lapins injectés à plusieurs reprises de sérum d'anguille, trouble ce liquide; il retrouva le même fait en étudiant le sérum de lapins qui avaient subi des injections de sérum de cheval: bien entendu, c'était alors ce liquide qui se troublait. Les précipités obtenus par M. Tchistovitch étaient, comme il l'a vu, solubles dans de petites quantités d'alcalis (potasse, soude, AzH^3), fait que nous avons pu constater à notre tour en opérant sur notre sérum de lapin, actif vis-à-vis du sang de poule.

Il paraît légitime de rapprocher ces phénomènes de ceux qui ont appelé l'attention de M. Kraus. Le sérum spécifique extrait des animaux qui ont été injectés eux-mêmes avec un sérum ou

un sang neufs, trouble le sérum neuf identique à celui qui a servi aux inoculations. Le sérum extrait des animaux injectés avec une culture, trouble le liquide de culture semblable à celui qu'on a employé dans la vaccination. Le précipité dont nous parlons est donc au précipité de Kraus ce que l'agglutination des globules est à l'agglutination des microbes : la comparaison est donc justifiée. Or, l'expérience montre que l'existence de ces précipités n'est pas indispensable à la production d'une forte agglutination, et ne lui est même pas corrélative. Le sérum d'un lapin, soumis à des injections réitérées de sang de poule, présente la propriété d'agglutiner (et de dissoudre) les globules et de précipiter le sérum de ce dernier animal. Mais il produit aussi un précipité dans le sérum de pigeon. On s'attendrait donc, corrélativement, à ce que le sérum en question agglutinât fortement aussi les globules du pigeon. Il ne les agglutine que faiblement, sans montrer à cet égard plus d'activité que le sérum de lapin neuf, dont le mélange avec le sérum de pigeon reste entièrement limpide. Cette agglomération est nettement inférieure, comme intensité, à celle que subissent, par exemple, les globules de lapin neuf mis en contact avec du sérum de poule neuve, et qu'aucune précipitation n'accompagne. — D'autre part, des cobayes, soumis à plusieurs injections de sang défibriné de lapin, nous donnent un sérum qui manifeste, vis-à-vis des globules de lapin, un pouvoir agglomérant très intense et qui, cependant, ne produit dans le sérum de ce dernier animal aucun trouble visible. Il n'y a donc pas de parallélisme obligatoire entre l'apparition de précipités et l'existence d'une agglomération intense. L'opinion qui reconnaît la formation de pareils précipités comme la condition *sine qua non* de l'agglutination ne nous paraît donc pas soutenable.

Arrivons à l'hypothèse de M. Gruber qui, dès son apparition, souleva des critiques. On concevait assez facilement que la substance glaireuse, produite par l'enveloppe des microbes, retint accolés les microbes réunis, mais on voyait moins clairement pourquoi elle les faisait venir rapidement les uns vers les autres. M. Pfeiffer et nous-mêmes ne pûmes trouver trace, par l'examen microscopique pratiqué sur des microbes vivants, colorés, ou sur des globules, de la modification morphologique que cette hypothèse impliquait.

M. Trumpp¹, cependant, pense avoir constaté l'altération des vibrions cholériques sous l'influence de l'agglutination. Mais il a observé ce gonflement des microbes dans des humeurs qui, en même temps que l'agglutinine, contenaient de l'alexine (ou lysine), cette matière bactéricide et globulicide qu'une température de 55° élimine. Cette alexine est énergiquement altérante pour les vibrions comme pour les globules ; elle peut dissoudre ces derniers et produire sur les microbes de grands changements, les gonfler, les transformer en granules et même les détruire. Il est évident que M. Trumpp aurait dû, pour apprécier l'influence propre de l'agglutinine, se servir de liquides préalablement débarrassés de l'alexine dont ils étaient chargés².

Des globules rouges agglomérés par un sérum provenant d'une espèce animale différente nous ont paru avoir gardé leur aspect normal ; ils restent normaux également quand on les soumet à l'action d'un sérum antihématique actif, qu'une exposition préalable à la température de 55° a dépouillé de l'alexine dissolvante sans altérer l'agglutinine. Du reste, l'hypothèse que ces éléments différents, microbes divers, globules rouges, subiraient tous, au contact d'un sérum actif, la même modification, n'a guère la vraisemblance pour elle. L'existence de cette altération visqueuse est encore moins probable, lorsqu'il s'agit non plus d'éléments organisés, microbes, globules rouges, mais de particules d'une substance chimique, telle que la caséine du lait. On peut obtenir un sérum qui « agglutine le lait », c'est-à-dire qui rassemble en amas les particules de caséine.

Dira-t-on que la surface de ces particules est devenue gluante, visqueuse sous l'influence du sérum actif ? Admettra-t-on que c'est à la faveur de cette viscosité qu'elles peuvent se coller les unes aux autres ? Il faudrait à ce compte accepter aussi que des particules d'argile en suspension homogène dans de l'eau distillée, se recouvrent également d'un enduit spécial, visqueux et gluant, lorsqu'on ajoute, au liquide où elles baignent, un peu de chlorure de sodium. On le sait, la présence de sel dans

¹ TRUMPP. *Archiv für Hygiene*, 1898.

² On peut faire une observation semblable à propos des constatations faites par M. Roger (*Revue générale des Sciences* (1896) et qui sont relatives aux modifications subies par l'*Oidium albicans* lorsque ce microorganisme est soumis à l'influence du sérum actif. — Dans un mémoire, paru tout récemment, MM. Kraus et Seng (*Wiener Klin. Wochenschrift* 1899, n° 1) émettent, à propos des observations de M. Trumpp et de M. Roger, les mêmes critiques.

une eau qui tient en suspension de l'argile finement divisée suffit à provoquer la formation de flocons qui se déposent bientôt au fond du vase; c'est un fait dont les géologues apprécieraient l'importance, et qui, favorisant les sédimentations, a son rôle dans la physique du globe.

L'existence de cette matière adhésive, qui fait la base des hypothèses de M. Gruber et de M. Dineur, semble à ce dernier auteur corroborée par une expérience significative. — M. Dineur constate que si l'on imprime des mouvements passifs assez lents à une émulsion de microbes qui vient d'être additionnée de sérum spécifique, l'agrégation des microorganismes est beaucoup favorisée. Les amas se forment et grossissent plus rapidement. M. Dineur suppose que le roulement des microbes les uns sur les autres, favorisant leur rencontre, enchevêtre leurs cils et permet la mise en jeu efficace de la matière gluante dont les cils seraient revêtus, et qui assure l'adhésion définitive.

Le fait observé par M. Dineur est exact, mais l'interprétation qu'il émet ne paraît pas l'être. En effet, l'influence favorisante des mouvements passifs pour la constitution des flocons s'observe aussi, avec beaucoup d'évidence, sur des précipités inertes non organisés. Si l'on verse une goutte de sérum dans 5 à 6 c. c. environ de solution de NaCl à 0,7 0/0 et, si on ajoute de l'acide nitrique, il se forme un trouble albumineux qui, laissé à lui-même, ne s'agglomère que lentement. Mais si, peu de temps après la formation du précipité, on verse dans un tube une petite quantité de ce liquide, et si l'on imprime à ce tube, tenu presque horizontalement, un mouvement lent de balancement léger qui se communique au liquide étalé, on trouve qu'au bout de quelques minutes, le précipité s'agglutine en petits grains blancs qui flottent dans le liquide devenu clair. Au contraire, le liquide laissé au repos garde pendant assez longtemps un trouble homogène. Le contraste entre les deux tubes est frappant. On peut faire la même expérience avec d'autres précipités albumineux (précipité de caséine naissant dans le sérum du lait sous l'influence de l'acide nitrique). Le phénomène sur lequel M. Dineur insiste s'observe aussi avec une extrême netteté dans l'agglutination du lait par le sérum actif vis-à-vis de ce liquide.

L'observation de M. Dineur, loin de plaider pour la théorie

de Gruber, établit donc une analogie, au point de vue de l'agglutination, entre les microbes et des particules non organisées. Il en existe une autre, plus significative.

On sait que l'aggrégation de précipités est souvent commandée par des causes en apparence minimes, parmi lesquelles on a décelé parfois la présence de sels en solution dans le liquide. Un exemple net est fourni par l'argile divisée qui, dans l'eau distillée reste en émulsion fine et homogène, s'agglutine au contraire et se dépose rapidement dans une eau qui contient du chlorure de sodium. Dès lors, si l'on admet que l'agglutination des microbes relève aussi de lois d'adhésion moléculaire, on peut supposer que les sels ne sont pas sans influence sur ce phénomène. C'est ce que l'expérience vérifie.

On délaie quelques cultures de vibron cholérique, âgées de 24 heures, dans la solution de NaCl à 0,7 0/0 (10 c. c. de liquide pour une culture). L'émulsion bien homogène obtenue est additionnée d'une dose énergiquement agglutinante de choléra-sérum. Les microbes forment rapidement des flocons qui se déposent au fond du tube. On centrifuge. On décante ensuite le liquide clair qui surnage, de façon à ne plus laisser dans le fond du tube que le dépôt compact de microbes agglomérés; on délaie les microbes dans très peu d'eau, et l'on obtient ainsi une émulsion assez épaisse. On répartit cette émulsion en quantités égales, dans deux tubes. On remplit le premier avec de l'eau distillée, le second avec la solution de NaCl à 0,7 0/0. On recentrifuge après avoir bien agité et délayé. On constate bientôt que, sous l'action de la turbine, les microbes se déposent plus vite dans le tube qui contient l'eau physiologique que dans celui où l'on a versé de l'eau distillée. Les dépôts formés, on reprend les 2 tubes, on décante les liquides surnageants, on les remplace par des liquides identiques : d'une part, eau physiologique, d'autre part, eau distillée. On agite pour bien dissocier les microbes.

On constate que les *amas se reconstituent rapidement dans le tube contenant 0,7 0/0 NaCl*; les microbes restent au contraire *indéfiniment épars dans celui qui renferme l'eau distillée*. Mais si l'on retire une certaine quantité du liquide trouble de ce second tube, si l'on en transvase par exemple 10 c. c. dans un nouveau tube, où l'on introduit ensuite 0.07 gr. de chlorure de sodium, *on*

constate que dans cette eau distillée additionnée de 0,7 0/0 de NaCl, l'agglutination réapparaît et que le dépôt des microbes s'opère ¹.

Ce qui s'observe pour l'agglutination spécifique du vibron cholérique se vérifie aussi pour ce qui concerne l'agglomération de ce vibron par les sérums d'animaux neufs. Nous avons fait voir il y a trois ans que le sérum de cheval neuf agglutine, avec une énergie très réelle, le vibron cholérique et d'autres microbes encore (b. typhique, b. coli, b. du tétanos). L'expérience précédente, faite non plus avec du sérum spécifique, mais avec du sérum de cheval neuf agissant sur le vibron cholérique, donne des résultats tout à fait conformes.

Il n'est même pas nécessaire, dans ce cas, d'enlever les traces de NaCl par des lavages répétés. On se borne à centrifuger l'eau physiologique chargée des microbes agglomérés; on décante ensuite le liquide en ne laissant que le dépôt; celui-ci est alors divisé en deux parts que l'on place dans deux tubes; on remplit l'un de ces tubes avec de l'eau distillée, l'autre avec la solution de NaCl. On agite et l'on voit l'agglutination réapparaître seulement en présence de sel ².

1. Il faut remarquer que cette « réagglutination » des microbes dans l'eau distillée, à laquelle on rajoute du sel, ne se fait pas tout à fait aussi vite que dans le tube où les microbes ont été toujours en contact avec l'eau physiologique — surtout quand le contact avec l'eau distillée a été trop prolongé. Il est probable que, pour bien s'agglutiner, les microbes doivent garder en eux une certaine dose de sel, qui n'en sort ou qui n'y rentre qu'au bout d'un certain temps.

2. L'existence du pouvoir agglutinant dans les sérums (même dans les sérums neufs) a sans doute vicié nombre de recherches faites au sujet de la propriété bactéricide des humeurs. Beaucoup d'observateurs ont employé, en effet, pour évaluer la puissance destructive d'un sérum vis-à-vis d'une certaine espèce microbienne, la méthode des ensemencements successifs, sur gélatine, de petites quantités de ce sérum en contact avec les microbes. Or, un sérum quelconque, ensemencé d'une petite dose de microbes, peut agglutiner ces derniers en amas qui, transportés ensuite sur gélatine, ne donnent chacun qu'une colonie. La cause d'erreur a naturellement grande importance dans les recherches portant sur des microbes très facilement agglutinables, tels que le bacille de la fièvre typhoïde.

On a certainement admis, fréquemment, l'existence de véritables propriétés bactéricides alors qu'il s'agissait simplement d'actions agglutinantes. Il est même probable qu'on a parfois attribué, par suite de la même méprise, aux alexines (matières bactéricides proprement dites) certaines propriétés des agglutinines. M. Buchner admet, par exemple, que l'alexine perd son activité, au moins en grande partie, lorsqu'on la mélange à de l'eau distillée. Or, la présence d'eau distillée dans un sérum doit diminuer en apparence la propriété bactéricide de ce dernier, car elle affaiblit l'agglutination et concurremment tend à augmenter le nombre des colonies qui pousseront sur gélatine après ensemencement. Nous avons pu constater que l'alexine agit très bien dans un milieu pauvre en sels : des vibrions qui ont été impressionnés par du sérum préventif, mais qui ont été lavés et sont en suspension (sans s'agglutiner) dans 15 parties d'eau distillée, se transforment en granules (trahissant ainsi l'action de l'alexine) quand, à ces 15 parties d'émulsion, on ajoute une partie de sérum neuf.

On peut répéter cette expérience, avec le même résultat, en la faisant porter sur du sérum de cheval neuf, et le bacille de la fièvre typhoïde.

On peut la faire encore en mettant en jeu cette fois, non plus des microbes, mais le précipité de Kraus obtenu par le mélange de choléra-sérum et d'une vieille culture filtrée de vibrions. Le précipité est soumis aux manœuvres décrites plus haut : on constate qu'il s'agglomère beaucoup plus fortement dans les liquides qui contiennent du sel que dans l'eau distillée.

Il est utile de reproduire, concurremment avec ces expériences, et en suivant la même technique, le phénomène anciennement connu de l'agglutination d'une émulsion d'argile fine qu'on obtient en délayant de la terre glaise dans l'eau distillée, puis filtrant sur papier, qui ne laisse passer que des particules très ténues. Les tubes qui ne contiennent pas de sel restent troubles pendant des journées entières. Les liquides additionnés de 0.7 0/0 de NaCl présentent une agglutination très énergique et un dépôt rapide. Rien de plus frappant que la ressemblance d'aspect que montrent, avec des amas encore flottants de microbes agglutinés, les flocons blanchâtres d'argile, suspendus dans le liquide, et qui gagnent lentement le fond du vase.

Ces expériences relatives à l'absence de l'agglutination dans l'eau distillée affermissent donc nettement l'idée que l'agglutinine agirait en provoquant sur les éléments, encore isolés à cet instant, des *changements tels, que leurs propriétés d'adhésion moléculaire deviendraient comparables à celles que présentent d'emblée les particules d'argile*. Il suffit dès lors, dans l'un et l'autre cas, d'ajouter du sel pour amener effectivement le phénomène physique — désormais possible — de l'agglutination. Il y a là, à nos yeux, une confirmation de l'hypothèse que nous avons émise et rappelée au lecteur.

*
* *

Les phénomènes d'agglutination, ainsi conçus, peuvent conduire à des généralisations intéressantes si l'on projette sur eux la lumière des idées émises par M. Duclaux à propos de la coagulation. Qu'est-ce en effet que l'agglutination? C'est la réunion en amas de particules organisées d'abord éparses, qu'une influence spéciale a impressionnées, et dont les propriétés d'adhésion moléculaire ont changé. Qu'est-ce en effet que la coagulation, d'après

M. Duclaux? C'est la réunion, en groupements, de particules — pouvant du reste être parfois extrêmement divisées, présenter même au sein d'un liquide les apparences d'une solution — de particules dont les relations d'adhésion moléculaire d'une part avec le liquide, d'autre part avec les particules voisines, ont été modifiées sous une certaine influence. Avant l'intervention de cette influence, le liquide restait homogène. Cette influence se faisant sentir, « l'état d'équilibre entre la pesanteur et les forces moléculaires est troublé, et soit que l'adhésion entre le liquide et le solide ait diminué, soit, ce qui est plus probable, que la force d'attraction entre les particules du solide ait augmenté, celui-ci se réunit en agrégats de plus en plus volumineux, qui deviennent visibles à l'œil nu et se précipitent ¹. »

Ce sont ces changements dans l'adhésion moléculaire qui amènent les particules (dont la nature chimique peut, dans les différents exemples, être très diverse) si fines souvent que le microscope ne les peut décéler, à s'agréger en amas d'abord invisibles encore et que rien ne trahit à l'œil, grossissant ensuite en troublant le liquide par le même phénomène d'anoncelement progressif, jusqu'à constituer des groupements volumineux nés d'une condensation moléculaire de plus en plus abondante.

Nous n'avons pas à suivre M. Duclaux dans les développements réguliers qu'il donne à cette idée, ni à faire remarquer quelle œuvre d'unification accomplit dans l'étude des phénomènes cette conception capable de relier d'un lien très intime des faits épars dont l'étroite parenté n'était point soupçonnée.

C'est un lien semblable qui unit les faits d'agglutination aux phénomènes de coagulation ainsi conçus. L'agglutination des bacilles est due à un changement dans les rapports d'adhésion moléculaire entre les corps des bacilles et le liquide qui les contient. Ainsi que s'exprime M. Duclaux, ce phénomène, « dans son ensemble comme dans ses détails, nous rappelle ce que nous avons vu et décrit, dans le chapitre consacré aux phénomènes de coagulation ². »

Dès lors, si nous avons le droit — qu'affirme M. Duclaux — de considérer l'agglutination comme étant un phénomène

1. DUCLAUX, *Traité de microbiologie*, tome II, p. 263.

2. DUCLAUX. *Ibid*, p. 706.

de coagulation; si nous sommes autorisés à donner désormais à la substance active du sérum, non plus le nom d'agglutinine, qui se borne à indiquer le fait même sans rien préjuger des affinités ni des causes, mais l'appellation plus suggestive de « coaguline », — nous pouvons supposer que les organismes, en raison de leur plasticité fonctionnelle, de la multiplicité de leurs ressources, seront à même d'élaborer, si on leur en fournit l'occasion, des principes agglomérants actifs non plus cette fois vis-à-vis d'éléments organisés, mais à l'égard de substances chimiques caractérisées, auxquelles on reconnaît depuis longtemps la *qualité d'être coagulables*.

C'est une supposition que l'expérience vérifie. Si l'on pratique sur des lapins, à plusieurs reprises, des injections intrapéritonéales de lait (qu'on a chauffé pendant une heure à 65° pour le stériliser au moins partiellement), on peut, au bout d'un certain temps, obtenir un sérum doué vis-à-vis du lait de propriétés spéciales.

On verse dans un tube une certaine quantité (3 c. c. par exemple) de ce sérum. Dans d'autres tubes on met, pour comparer, des quantités équivalentes de divers échantillons de sérum de lapin neuf. On verse dans les divers tubes une dose pas trop forte de lait, dix ou quinze gouttes par exemple. — On constate bientôt que les tubes contenant le sérum neuf conservent l'opacité blanche et homogène due à la présence du lait. Dans le tube renfermant le sérum actif, *on voit naître rapidement des grains d'abord fins qui grossissent bientôt et forment des flocons épais*. Bientôt le liquide se sépare en deux parties, l'une qui redevient entièrement limpide, l'autre qu'occupent les flocons agglomérés. Parfois les flocons descendent au fond du vase, et c'est la partie supérieure qui se clarifie. Cela arrive quand on emploie du lait assez pauvre en graisse, ou plus sûrement encore du lait qui a passé 2 ou 3 fois à travers un papier à filtre ¹, et qui s'est ainsi dépouillé d'une partie de ses globules gras. Si l'on emploie du lait riche en graisse, les flocons gagnent la partie supérieure du liquide, entraînés par la légèreté des globules gras qu'ils ont englobés.

1. Les expériences sont peut-être plus élégantes quand on emploie un lait ainsi filtré. Ce lait est en effet plus propre, ne tache pas de blanc les verres qu'il a touchés, rend ainsi les liquides moins opaques; on juge plus nettement alors de l'apparition de l'agglutination.

Si l'on jette sur des filtres en papier de tels mélanges de lait avec du sérum neuf, d'une part, du « *lactosérum* », de l'autre, ce second liquide passe d'emblée tout à fait limpide, dépouillé entièrement de la blancheur trouble que le lait lui avait communiquée; les liquides à base de sérum neuf passent avec un louche intense.

L'examen au microscope des mélanges de lait avec les sérums montre qu'il s'est produit, sous l'influence du lactosérum, des îlots granuleux très abondants qu'on ne trouve pas dans les mixtures de sérum neuf et de lait. Ce précipité en îlots est tout à fait semblable à des grumeaux de caséine, résultant de l'action de la présure sur le lait¹. Certains agrégats sont composés uniquement du fin précipité granuleux; d'autres englobent un grand nombre de globules gras qu'ils emprisonnent dans leur substance.

Si à du lactosérum, on a ajouté une quantité de lait *un peu supérieure à celle qu'il peut agglutiner*, il ne s'en forme pas moins un dépôt très abondant de matière agglomérée. Si l'on attend que le dépôt de tous les amas, même les plus petits, se soit opéré, on trouve que le liquide surnageant est devenu presque entièrement limpide, et l'œil n'y décèle plus rien. Séparé par décantation et mélangé à du sérum neuf, il ne donne aucun trouble; le liquide reste bien transparent. Si on l'additionne de lactosérum, on voit au bout de quelques instants un léger trouble survenir, qui s'accroît bientôt; ultérieurement des flocons se constituent et forment un dépôt qui peut encore être abondant. Ce lactosérum a aggloméré de la caséine extrêmement divisée, troublant à peine le liquide, et qui avait échappé à l'action agglutinante d'une première dose, (insuffisante) de sérum actif.

On peut faire une expérience analogue de la manière suivante: Nous avons dit plus haut que le sérum neuf additionné de lait. (par ex. 4 c. c. de sérum contenant 10 gouttes de lait) passe

1. Nous ne voulons pas en déduire, bien entendu, que l'agglutinine du lactosérum soit identique, dans sa nature, à la présure. Il existe entre ces substances des différences très grandes. L'action de l'agglutinine dépend beaucoup moins que celle de la présure, de la température; elle agit à des températures basses où la présure est presque inactive. Notre sérum n'a pas, à petites doses, la propriété que possède la présure, d'agréger en caillot des quantités véritablement énormes de caséine en suspension. D'autre part, la présure ne produit guère d'effet constatable dans un mélange d'une forte dose de sérum neuf et d'une petite quantité de lait, tandis que, dans ces conditions, l'agglutination apparaît si l'on ajoute du lactosérum au mélange.

trouble à travers un filtre de papier. Mais si l'on répète un certain nombre de fois la filtration à travers le même filtre, on arrive à clarifier beaucoup le liquide, qui finit par ne plus présenter qu'une opalescence à peine perceptible, pouvant facilement passer inaperçue. Ce liquide, examiné au microscope, est très pauvre en globules gras, dont on ne trouve que de rares et très petits échantillons, et l'on n'y découvre pas d'autre élément visible. Si on en mélange une certaine dose avec partie égale de sérum neuf, aucun phénomène ne se produit. Mêlé à du lactosérum, à dose égale, le liquide d'abord transparent se trouble rapidement, et bientôt s'agglutinent des amas blancs de caséine, assez volumineux, et qui au microscope reproduisent les îlots granuleux identiques à des parcelles de caillot formé sous l'influence de la présure.

On peut aussi faire naître de semblables précipités dans du sérum de lait obtenu par l'action suffisamment prolongée, sur le lait, de la présure. Ce sérum filtré sur papier est à peine opalescent, il ne se trouble pas au contact du sérum neuf; il donne, sous l'action du lactosérum, un trouble intense qui se condense bientôt en flocons. On sait que le sérum du lait contient encore de la caséine qui a échappé à l'action de la présure, mais qui donne par l'addition d'un acide, un précipité volumineux.

*
* *

N'y a-t-il pas, dès à présent, des analogies à établir entre l'apparition, sous l'influence du lactosérum, de précipités floconneux au sein de liquides limpides où la caséine extrêmement divisée ne trahit sa présence que par une opalescence presque imperceptible, — et la production des précipités qui naissent dans un mélange de deux sérums, dans les conditions indiquées plus haut? Notre sérum actif d'un lapin qui a été injecté de sang de poule, fait naître dans le sérum de poule un précipité abondant : ne peut-on pas admettre que, dans ce cas aussi, le sérum actif en jeu agrège des groupements moléculaires, tellement épars et dissociés auparavant qu'ils ne troublaient pas la limpidité de la liqueur? Les précipités produits dans de pareils mélanges de sérums résulteraient donc d'un phénomène d'agglutination ¹ ou

1. Le fait suivant corrobore cette manière de voir : La propriété (caractéristique du sérum actif de lapin) de faire naître un précipité dans le sérum de poule, s'affaiblit si ce sérum actif a été porté au préalable, pendant 1/2 heure, à la température de 65°; elle disparaît s'il a été chauffé pendant le même temps à

si l'on veut, de coagulation, car ici nous ne savons plus du tout lequel des deux termes nous devons employer.

Ne doit-on pas d'autre part établir une analogie entre l'apparition de ces précipités, et l'agglutination des microbes ou des globules, la condensation en amas volumineux de particules figurées, d'abord uniformément dispersées?

Le seul fait qui distingue les phénomènes dans tous ces cas divers, c'est que les particules agglutinables sont dans certains exemples tellement fines et divisées qu'elles n'altèrent point, avant leur condensation, la clarté du liquide; parfois au contraire, elles sont assez volumineuses (telles sont les corpuscules microbiens ou hématiques), pour communiquer au liquide avant toute aggrégation un trouble évident à l'œil nu.

Mais cette variété dans la grosseur originelle des particules en jeu n'est qu'une circonstance accessoire, n'intervenant pas dans la conception de l'essence même des phénomènes. La distinction créée par elle n'est que secondaire et ne saurait changer en rien la conclusion, *que rien de fondamental ne sépare les phénomènes d'agglutination de ceux de coagulation.*

La coagulation de l'argile, par exemple, se relie, grâce aux idées de M. Duclaux, à la coagulation du lait; elle se rattache à l'agglutination des microbes par les expériences sur le rôle du chlorure de sodium; en outre, l'agglutination des microbes se rapproche de la coagulation du lait, grâce à l'existence du lactosérum agglutinant, lequel peut provoquer d'autre part dans des liquides, des coagulations comparables aux précipitations observées dans le mélange d'un sérum neuf avec un sérum spécifique particulier, ce dernier lui-même s'obtenant par l'application aux animaux, d'une méthode d'injections entièrement comparable à celle qui fournit les sérums capables d'agglomérer les microbes. Les traits d'union se multiplient donc entre tous ces phénomènes, et c'est pourquoi nous sommes forcés d'admettre, pour tous, étant données les analogies qui les unissent, une même explication

70°. Or, après un tel chauffage à 65°, et bien plus encore après un chauffage à 70°, le sérum a perdu également, en grande partie, la propriété agglutinante qu'il manifestait vis-à-vis des globules rouges de poule. Pour ce qui concerne l'action de la chaleur, la substance précipitante se comporte donc comme une agglutinine. Au contraire, la substance précipitable du sérum de poule résiste parfaitement à un chauffage, pendant une demi-heure, à la température de 75°; un sérum de poule chauffé de la sorte, précipite encore sous l'action du sérum actif de lapin.

commune et générale, attribuant l'apparition de l'agglutination à des changements dans l'adhésion moléculaire.

Si, pour choisir un exemple parmi ces exemples divers, mais semblables, nous revenons à l'agglutination spécifique des microbes, nous pourrions admettre que l'agglutinine qui se fixe sur les microbes, agit en modifiant les rapports d'attraction moléculaire qui unissent les particules microbiennes, d'une part avec leurs voisines, d'autre part, avec le liquide ambiant. L'agglutinine ne touche qu'à certaines espèces microbiennes déterminées. *Pendant cette première période, la notion de la nature et de la constitution organisée propre du microbe entre en lumière avec beaucoup d'évidence.* Probablement même faut-il, pour que les microbes soient bien sensibles à l'action de l'agglutinine, qu'ils soient dans un état d'intégrité suffisant, ainsi que tendent à le prouver certaines expériences de M. Malvoz ¹.

Mais dès que l'effet produit sur l'adhésion moléculaire est obtenu, les microbes s'agregent comme le feraient des particules inorganisées, sans qu'il soit dès lors nécessaire de faire intervenir encore la notion de leur organisation propre, sans qu'il soit indispensable surtout d'admettre que les microbes adhèrent les uns aux autres, comme une étiquette collée à un flacon, par l'intermédiaire d'une matière adhésive spéciale, dont les cils ou la membrane gonflée seraient enduits. Ce phénomène de rapprochement des particules sous l'influence d'un changement dans les relations d'attraction moléculaire, doit par définition être rangé parmi les phénomènes de coagulation tels que M. Duclaux les caractérise.

Nous le répétons, cette manière de voir divise le phénomène total de l'agglutination en *deux phases bien distinctes*. Dans la première, les microbes encore épars sont touchés par l'agglutinine, qu'ils fixent; ils subissent, de ce chef, des modifications dans leurs propriétés d'adhésion moléculaire. Dans la seconde, ces modifications provoquent l'agglutination proprement dite.

Cette distinction en deux périodes n'est point artificielle ni factice. On peut en effet *dissocier ces deux phases, faire apparaître la première sans provoquer la seconde*. C'est ce que réalise l'expérience citée plus haut, qui met en évidence le rôle du chlorure de sodium. Les microbes lavés, en suspension dans l'eau distil-

1. MALVOZ, *Recherches sur l'agglutination du bacille typhique*. Ces Annales, juillet 1897.

lée. ont subi l'impression par l'agglutinine ; ils sont immobilisés, (ajoutons ici qu'ils sont en outre devenus très sensibles à l'action de l'alexine) ils sont préparés à être agglutinés avec énergie. Mais il faut, *pour que la seconde phase du phénomène se déroule*, introduire dans l'émulsion un peu de sel marin, nécessaire à l'agglutination proprement dite.

Quant au phénomène de Kraus, son interprétation n'est pas mûre. Il n'est point démontré que le précipité de Kraus ait quelque chose à faire avec la véritable agglutination des microbes ; il se peut en effet que ce précipité soit comparable à celui qu'on obtient en mélangeant du sang défibriné de poule à du sérum actif de lapin (injecté préalablement de sang de poule), et qui ne paraît avoir aucun rapport avec l'agglutination des globules eux-mêmes. Mais si le précipité signalé par Kraus était formé de la vraie matière agglutinable des microbes, il faudrait, nous semble-t-il, le rapprocher, au point de vue de son mode de production, des précipités de caséine que le lactosérum produit dans des milieux (sérum de lait filtré, par exemple) où cette substance est tellement divisée qu'elle ne trouble point la limpidité du liquide.

Cette précipitation représenterait donc, dans cette hypothèse, une agglutination de matière microbienne très divisée.

*
* *

L'idée que l'agglutination des éléments figurés, globules, microbes, ou de particules non organisées, caséine, se présente avec les caractères d'un phénomène de coagulation, doit suggérer quelques réflexions relatives à la signification des propriétés actives du sérum.

Énumérons d'abord brièvement, sans répéter en détail le texte de nos notices antérieures, les propriétés essentielles, constatables *in vitro*, que nous avons reconnues aux sérums spécifiques ou, pour préciser, à deux sérums que nous prendrons pour types, le choléra-sérum, et le sérum actif vis-à-vis des globules de lapin (sérum provenant de cobayes injectés de sang de lapin). Ces sérums ont des propriétés tout à fait semblables, et nous avons insisté récemment sur leurs analogies. Ces propriétés sont les suivantes :

1° Ces sérums agglutinent les éléments figurés, en supprimant la mobilité dont ceux-ci peuvent être doués.

2° Lorsque les vibrions ou les globules ont été en contact avec ces sérums, ils deviennent plus aptes à ressentir l'influence altérante, destructive de l'alexine; (l'alexine ou lysine étant, on le sait, cette matière bactéricide et globulicide, qu'une température de 55° détruit, et qui peut fonctionner vis-à-vis de certains éléments délicats, vibrions, globules, comme une sorte de diastase dissolvante). Ces deux propriétés se retrouvent encore dans les sérums qui ont été chauffés à 55° ou 60°.

3° Ces sérums (à l'état frais) possèdent de l'alexine; et c'est pourquoi, agissant sur les éléments qu'ils ont sensibilisés, ils les altèrent profondément (transformation des vibrions en granules, destruction des globules) et même leur font subir des phénomènes de dissolution partielle.

Si nous ne voulons énumérer que les propriétés réellement caractéristiques de ces sérums, nous pouvons éliminer la troisième, celle de posséder de l'alexine. En effet, cette propriété appartient tout aussi bien aux sérums d'animaux neufs. Après avoir fait disparaître cette alexine dans le sérum spécifique en question, au moyen du chauffage à 55°, après en avoir détruit, corrélativement, le pouvoir bactéricide ou globulicide, on peut leur restituer l'alexine, reconstituer en même temps ce pouvoir, en ajoutant aux liquides un peu de sérum neuf¹.

Restent donc deux propriétés qui, à la vérité, se rencontrent encore à un certain degré dans les sérums neufs, mais qui n'y sont que faiblement représentées. On peut donc les considérer, lorsqu'elles sont très intenses, comme caractérisant les sérums d'animaux vaccinés.

Nous n'abordons pas ici la question de savoir si ces deux propriétés sont dues à la présence de deux substances distinctes, ou s'il faut les attribuer à l'activité d'une seule et même matière; nous nous réservons de revenir sur cette question dans une notice prochaine. Quoiqu'il en soit, la plus remarquable de ces deux propriétés est celle de sensibiliser les éléments à l'action de l'alexine.

1. Voir, pour le détail de ces expériences relatives au vibrion cholérique, notre mémoire paru dans ces *Annales*, juin 1895, et pour ce qui concerne les globules, le n° d'octobre 1898.

Quand nous disons qu'il existe, dans les sérums spécifiques, une *substance sensibilisatrice*, cela implique nettement que les sérums agissent directement sur ces éléments. Cette substance sensibilisatrice a en effet une prédilection toute spéciale à se fixer sur les éléments qu'elle peut impressionner.

Des vibrions cholériques transportés en quantité suffisante dans un liquide contenant du choléra-sérum, en absorbent les principes actifs. Si l'on centrifuge et si l'on décante le liquide clair sur-nageant, on constate que ce dernier a perdu, en même temps que son pouvoir agglutinant, la faculté de sensibiliser de nouveaux microbes à l'action de l'alexine. En d'autres termes, de nouveaux vibrions mis en contact avec le liquide *ne sont plus immobilisés ni agglutinés et peuvent être injectés dans le péritoine d'un cobaye ou mélangés in vitro avec du sérum neufsans présenter la transformation en granules*. Le même phénomène d'absorption, de fixation, se produit si on cultive des vibrions dans un bouillon additionné d'une quantité pas trop forte de choléra-sérum. Les microbes qui se développent *dépouillent le liquide à la fois de toutes ses propriétés spéciales*¹. Les mêmes faits se vérifient pour ce qui concerne les sérums actifs vis-à-vis des globules rouges. Ceux-ci, mis en contact avec le sérum, absorbent la substance agglutinante et aussi la substance sensibilisatrice². Le liquide qu'on sépare par centrifugation d'un tel mélange est inactif sur de nouveaux globules. Ajoutons que les agglutinines des sérums neufs sont également

1. Ce résultat de nos expériences est en contradiction complète avec les faits observés par M. Pfeiffer (*Centralblatt für Bakteriologie* (1896), qui a fait cette dernière expérience. M. Pfeiffer constate bien qu'il y a absorption de l'agglutinine, mais il déclare que le liquide séparé des microbes qui y ont proliféré, garde la propriété de provoquer le phénomène de transformation granuleuse si on l'injecte, mêlé à de nouveaux vibrions, dans le péritoine d'un cobaye neuf. D'ailleurs, la conclusion de M. Pfeiffer, d'après laquelle les sérums actifs n'agiraient pas (sur les microbes) de la même manière *in vitro* et dans le péritoine, est erronée. L'action *in vivo* et *in vitro* est la même. L'expérience montre que la dose minimale de choléra-sérum qu'il faut nécessairement introduire dans une émulsion de vibrions, pour que ceux-ci se transforment en granules lorsqu'on les met en contact (à la suite de l'injection dans le péritoine) avec l'alexine dont l'exsudat péritonéal est chargé, est identique à celle qu'on doit faire agir sur les vibrions pour que ceux-ci se transforment en granules, *in vitro*, lorsqu'on les met en contact avec l'alexine du sérum neuf. L'action directe que le sérum exerce sur le microbe dans le péritoine et *in vitro* est la même. Cette dose minimale est aussi, pour les vibrions, très voisine de la dose minimale agglutinante. Nous reviendrons prochainement sur ces questions.

2. Nous devons noter ici que M. Ehrlich (*Berliner Klin. Wochenschr.* 1899, n° 4), a vu récemment qu'un sérum antihépatique épuisé par le contact avec des globules, est devenu incapable de constituer, avec le sérum neuf, un mélange dissolvant pour de nouveaux globules.

absorbées par les globules ou les microbes¹. Tout ceci nous montre que les organismes, pendant le cours de la vaccination, se distinguent en ce qu'ils élaborent, non pas des quantités très fortes de cette « diastase dissolvante », l'alexine, mais *des substances favorisant l'action de cette diastase*, des principes capables de se fixer sur les éléments et de les sensibiliser à l'influence de cette alexine.

C'est donc grâce surtout à ces substances favorisantes que les sérums des vaccinés sont capables de produire, si les éléments atteints ne présentent pas une trop grande résistance, ce qui est malheureusement le cas pour un grand nombre de microbes² des phénomènes de digestion bien accusés. Nous pouvons donc considérer de tels sérums comme analogues aux sucs digestifs.

Cette analogie qui se dessine entre les propriétés des sérums actifs et des sucs digestifs se confirme si l'on songe que les substances actives du sérum ont vraisemblablement pour sources les cellules digestives que M. Metchnikoff a fait connaître, dont le rôle dans l'immunité est si important, et qui se rattachent, dans l'évolution, à ces cellules amiboïdes capables, chez les organismes simples, d'assurer la nutrition de l'être, grâce à leurs fonctions de digestion intracellulaire. Ce sont des cellules semblables, suivies par M. Metchnikoff à travers la hiérarchie des êtres, qui assument, chez les espèces peu différenciées, toute la fonction digestive. Bien plus, ce sont de pareilles cellules

1. Nous dirons à ce propos quelques mots d'une expérience assez curieuse qui, à vrai dire, sort un peu du sujet de cette notice. Si l'on met une certaine dose d'un sérum *neuf* doué de propriétés agglutinantes assez fortes, (sérum de cheval *neuf*) dans une émulsion de vibrions cholériques, on constate une certaine agglutination. Si l'on centrifuge et qu'on sépare le liquide clair, on constate que ce dernier n'agglutine plus le vibrion cholérique, mais qu'il agglutine encore fortement le bacille typhique. Inversement, si l'on met en contact une nouvelle quantité de ce même sérum de cheval neuf, avec une émulsion de bacilles typhiques, on constate que le liquide décanté après centrifugation est devenu incapable d'agglutiner le bacille typhique, mais agglutine encore le vibrion cholérique. Il semble donc tout à fait certain que ces deux microbes différents prennent à un même sérum deux agglutinines différentes. Il semble que la spécificité des agglutinines, qui caractérise si nettement les sérums des vaccinés, existe déjà en germe chez l'animal neuf. De telles expériences pourront sans doute éclairer quelque peu la question si obscure de l'origine de la spécificité des propriétés actives des sérums. On peut concevoir en effet que la vaccination contre tel microbe s'accompagne de la production en grande quantité de telle agglutinine spéciale, qui préexistait à faible dose.

2. On sait que le bacille typhique, le bacille coli, par exemple, ne présentent qu'avec difficulté, même en présence du sérum actif, la transformation en granules. Nombre de microbes sont moins sensibles encore aux propriétés bactéricides.

amiboïdes qui représentent l'origine de nos appareils digestifs, car M. Metchnikoff a établi que la digestion, d'abord uniquement intracellulaire, devient dans l'évolution, extracellulaire, parce que ces cellules acquièrent la propriété de sécréter au dehors leurs sucs dissolvants.

La source des agglutinines, des substances sensibilisatrices, n'est pas définie il est vrai; mais pour ce qui concerne l'alexine, le principe dissolvant proprement dit, des observations nombreuses s'accordent à lui reconnaître une origine leucocytaire.

Nous ne voulons pas, dans un sujet entouré encore de tant d'obscurités, donner un caractère absolu à des rapprochements qui néanmoins se présentent dès l'heure actuelle à l'esprit. Toutefois, des caractères importants rapprochent les sérums actifs des sucs digestifs, et l'analogie s'expliquerait si, comme divers faits et des présomptions sérieuses le rendent probable, l'élaboration des substances actives devait être attribuée au système phagocytaire, à cet ensemble de cellules douées à un haut degré de propriétés digestives qu'elles ont conservées au cours de l'évolution tout entière.

Si les faits que l'avenir apportera plaident dans le même sens, on arrivera à cette conclusion que l'immunité apparaît de plus en plus, non seulement au point de vue biologique (ceci est solidement établi à l'heure présente) mais aussi au point de vue chimique, comme un cas particulier de la Physiologie générale de la Digestion.



CONCLUSIONS

I. Les théories qui expliquent l'agglutination microbienne par le gonflement et la viscosité, soit des membranes, soit des cils, se heurtent à de nombreuses objections et n'expliquent pas tous les phénomènes d'agglutination. Il en est de même de la théorie qui reconnaît comme cause à l'agglutination la formation d'un précipité au sein du liquide.

II. L'agglutination peut porter sur des éléments très divers (globules, microbes, caséine). On doit admettre, pour les divers cas de l'agglutination par les sérums, une même explication.

III. On est autorisé à admettre que les agglutinines, en se fixant sur les éléments agglutinables, amènent des modifications

dans les attractions moléculaires qui unissent ces éléments soit entre eux soit avec le liquide ambiant. Le phénomène total de l'agglutination doit être divisé en deux phases, dont on peut expérimentalement produire la première (période de l'impression par l'agglutination des éléments encore isolés) sans provoquer la seconde (période de l'agglutination proprement dite). Dans la première phase seulement, la nature propre des éléments intervient. Dans la seconde phase, les particules, obéissant à des attractions moléculaires, peuvent présenter, dans leur agglutination, des particularités qu'on retrouve dans l'agrégation de particules minérales.

IV. Les phénomènes d'agglutination se rapprochent intimement des phénomènes de coagulation.

V. On peut provoquer des phénomènes de vraie agglutination dans des liquides limpides, où les particules sont extrêmement divisées.

VI. On peut comparer dans une certaine mesure, au point de vue des propriétés coagulantes et dissolvantes, les sérums actifs et les sucres digestifs. On est amené à prévoir que l'immunité apparaîtra de plus en plus, même au point de vue chimique, comme un cas particulier de la Physiologie de la Digestion.

VII. Suivant une conclusion déjà formulée dans un article précédent à propos des sérums antihématisques, la production, par les organismes en cours de vaccination, de substances nocives pour les microbes, ne doit pas être interprétée dans un sens téléologique. Ce n'est pas dans le but de se défendre que l'organisme élabore ces substances nocives. Il met simplement en jeu contre les microbes des capacités fonctionnelles préexistantes, aptes aussi à s'exercer, le cas échéant, vis-à-vis d'éléments non dangereux, tels les globules rouges, la caséine du lait. Les propriétés spéciales des sérums des vaccinés existent en germe dans les sérums neufs. Ceci paraît devoir concerner aussi le caractère que présentent les sérums des vaccinés, d'être spécifiques.

RAPPORT SUR LA PESTE BUBONIQUE

de NHATRANG (Annam).

PAR M. LE D^r YERSIN

Origine de l'épidémie. — Vers la fin de juin 1898, quelques cas de peste nous étaient signalés à Nhatrang, dans un village de pêcheurs, situé à peu de distance de l'Institut.

Le premier cas, constaté par nous, date du 28 juin, mais nos renseignements nous ont prouvé depuis l'existence de cas antérieurs dans ce même village.

Au premier abord, il était permis de supposer, et certains esprits peu bienveillants n'ont pas manqué de l'insinuer, que la peste sortait du laboratoire. Bien que notre responsabilité fût gravement engagée, nous l'avions supposé nous-même les premiers. Cependant, un examen plus approfondi des faits et des circonstances, de même que l'enquête que nous n'avons cessé de mener depuis le début de l'épidémie, et dont on verra plus loin les résultats, sont venus détruire sans peine cette première hypothèse.

Il est en effet incontestable que si l'épidémie avait eu pour cause une imprudence commise pendant nos expériences, le personnel du laboratoire aurait été tout d'abord atteint, comme cela s'est vu à Vienne récemment. Or personne, parmi les Européens ou indigènes de l'Institut, n'a été malade. Cette preuve, à la rigueur, pourrait dispenser d'en fournir d'autres.

Un incident futile, une rivalité de village suivie d'une dénonciation, nous ont mis sur la voie de l'origine réelle de l'épidémie, et nous ont amené à constater que la peste de Nhatrang est bien une importation chinoise. Les jonques chinoises, venant de Canton et Haïnam et se rendant à Singapore, descendent au commencement de l'année et font escale dans l'île du Bay-Mien où elles achètent des porcs.

Le village de Culao, assez éloigné de l'Institut, avec lequel il n'a aucun rapport et dont il est même séparé par l'estuaire

de la rivière, est en relations constantes avec ces jonques auxquelles il vend des porcs. Or ce village déclare que les premiers décès ont eut lieu parmi ses habitants au mois de mars 1898. Cette date coïncide avec le passage des jonques et la forte recrudescence de peste qui sévissait à cette époque en Chine. Il n'est donc plus permis de douter que les gens de Culao ne se soient infectés à bord des jonques chinoises, et n'aient été les véhicules du bacille.

Marche de l'épidémie. — La peste, en dehors de Culao, a eu deux foyers successifs : le premier dans le petit village de pêcheurs de Xuong-Huan du 20 juin au 25 juillet (19 cas) ; le deuxième dans les villages de Phuong-Can et Nhatrang situés à proximité du Xuong-Huan, du 1^{er} août au 1^{er} novembre (54 cas).

Nous avons pu très rapidement arrêter la peste dans le premier foyer, grâce à la destruction par le feu des maisons contaminées et des maisons voisines.

Si l'épidémie a duré plus longtemps dans les villages de Phuong-Can et Nhatrang, cela tient à ce que nous n'avons pu prendre cette mesure que beaucoup plus tard ; mais là aussi, elle a eu un effet immédiat.

Mode de propagation. — La peste s'est propagée lentement et régulièrement, gagnant de proche en proche, sans faire de bonds, sauf lorsqu'elle a passé du premier au deuxième foyer. Il est cependant à noter que les deux foyers ne sont distants que de 500 mètres, et que les communications entre les deux villages sont incessantes.

J'ai constaté au mois d'août la présence de rats morts de la peste dans la zone infectée, mais je n'en ai trouvé qu'un petit nombre, et, malgré la promesse de 10 cents par rat vivant ou mort qui me serait apporté, les indigènes ne m'en ont présenté aucun.

Chaque fois qu'un cas de peste nous était signalé dans une maison, nous la faisons immédiatement évacuer et les habitants étaient transportés dans une île d'isolement où ils devaient rester 15 jours.

Cette mesure n'a pas empêché la peste de se propager dans les maisons voisines de celles déjà infectées, tandis que les habitants de ces dernières, depuis le moment où ils en étaient écartés, restaient indemnes.

Ceci me paraît confirmer l'opinion émise par le Dr Simond, que la peste est peu contagieuse d'homme à homme et que l'infection doit se faire autrement.

Le Dr Simond pense que les puces y contribuent pour une large part. Je partage entièrement son avis et pense comme lui que, lors de l'évacuation des maisons, les puces restent dans la paillote et dans le sol ; mais bientôt, ne trouvant plus leur nourriture habituelle, elles gagnent les maisons voisines dans lesquelles elles portent l'infection.

Il ne suffit pas toujours, pour qu'un village soit infecté, qu'un homme malade de la peste vienne y mourir. Ce qui tendrait à le prouver, c'est que deux pestiférés de Nhatrang sont allés mourir à Cho-Moï, village important éloigné de 4 kilomètres, et que, après l'incendie des maisons où ils avaient séjourné, le village est resté indemne jusqu'à aujourd'hui.

Symptômes de la maladie. — La peste, chez les Annamites, présente les mêmes caractères que chez les Chinois et les Indiens. La maladie typique débute brusquement par un frisson, suivi d'une haute température (39 à 41°).

Le malade, pris de vertige, a la démarche d'une personne ivre. Il éprouve une grande lassitude, de la céphalalgie ; les conjonctives sont injectées, la respiration accélérée, le pouls fréquent. Le malade a des vomissements, il est plutôt constipé.

Le bubon paraît dès les premières heures et se développe très rapidement ; il est en général unique, siège par ordre de fréquence à l'aîne, à l'aisselle, au cou. Il est toujours très douloureux au toucher. Il peut rester limité au groupe ganglionnaire ou être accompagné d'un empâtement diffus de la région.

Le deuxième jour, la température reste élevée, la respiration devient plus anxieuse et le pouls plus fréquent ; le malade a souvent du délire. Le bubon grossit et atteint souvent la dimension d'un œuf de pigeon.

Le troisième jour, la fréquence du pouls est excessive (plus de 140 pulsations à la minute) ; le malade est angoissé. Le bubon a atteint la dimension d'un œuf de poule.

La mort arrive subitement par arrêt de la respiration.

Le cas typique de peste, tel que nous venons de le décrire, est exceptionnel. En réalité, on observe une grande variété dans les symptômes, si bien que dans plus de la moitié des cas, le

diagnostic n'est possible qu'après la mort, lors de la recherche microscopique du bacille caractéristique de la peste.

Si nous étudions la statistique des 72 cas de peste observés à Nhatrang, nous voyons qu'il y a eu 38 cas avec bubons et 34 cas sans bubons. Donc, près de la moitié des cas ne présentaient pas le bubon caractéristique.

Dans les cas sans bubons, la maladie évolue soit comme une pneumonie simple, soit comme un accès pernicieux, sans qu'il y ait possibilité de faire le diagnostic pendant la vie.

Le symptôme le plus constant est la fièvre; la température dépasse en général 39°, mais non toujours. La céphalalgie et le vertige sont aussi très fréquents, ainsi que les vomissements et l'anxiété respiratoire. Dans la pneumonie pesteuse, le malade a très souvent des hémoptysies, la diarrhée est toujours rare.

Il est certain que ces symptômes sont insuffisants, s'ils ne sont pas très accusés, pour l'établissement du diagnostic. On voit souvent des gens, peu malades en apparence, qui meurent subitement, quelquefois au milieu de leur travail. Ce sont les cas de peste foudroyants, dans lesquels la maladie a évolué insidieusement et sans symptômes extérieurs.

Nous avons eu plusieurs cas semblables à Nhatrang; j'en citerai deux comme exemples. Le 9 août, un vieux pêcheur de 60 ans s'embarque sur sa jonque pour aller pêcher en mer. Vers 9 heures du matin, il dit se sentir indisposé et se roule dans sa natte. Une heure après, ses camarades veulent l'appeler pour manger : il était mort. A l'autopsie, j'ai constaté la peste.

Le 4 septembre, une femme de 40 ans, marchande dans le village, reçoit deux clientes; elle les sert, cause un moment, puis soudain dit qu'elle se sent indisposée et qu'elle a des vertiges. Elle s'étend sur son lit et meurt aussitôt! J'ai également constaté la peste à l'autopsie.

Chez les vieillards, la peste a le plus souvent une marche insidieuse, sans symptômes nets. La température est irrégulière, tantôt très élevée, tantôt normale; le bubon manque le plus souvent. La mort arrive tardivement (5^e ou 6^e jour), et le diagnostic n'est possible qu'à l'autopsie.

Diagnostic bactériologique. — Le bacille de la peste existe toujours dans les ganglions lymphatiques, même dans les cas de peste sans bubons, pneumonies et autres formes. Il est très

facile, après la mort, d'extirper du cadavre un ganglion à l'aîne, à l'aisselle ou au cou. Cette opération peut être faite en moins d'une minute et n'effraie pas les indigènes, qui ne s'y sont jamais opposés.

Le ganglion extirpé est examiné au microscope et ensemencé sur de la gélose nutritive.

En vue de l'examen microscopique, le mode d'opérer le plus simple est de couper le ganglion avec une paire de ciseaux flambés, et de frotter la surface coupée sur une lame de verre.

Dès que le « frottis » est desséché, on le fixe au moyen de l'alcool-éther et on le colore en quelques secondes avec du violet de gentiane. La préparation, lavée et séchée, est examinée au microscope avec un objectif à immersion. Le bacille de la peste se reconnaît aisément à sa forme ovoïde et à ses pôles colorés.

En général, l'examen microscopique suffit dans les cas où il existe une quantité considérable de bacilles de la peste. Mais il peut arriver que ceux-ci soient rares ou qu'il y ait doute. Dans ce cas, il faudra ensemencer avec pureté de la pulpe de ganglion sur quelques tubes de gélose nutritive. S'il y a de la peste, en 24 à 36 heures, il se développera à la surface de la gélose un grand nombre de petites colonies translucides, que l'on reconnaîtra être de la peste à l'examen microscopique.

Il est bon de se rappeler que le microbe de la peste ne prend pas le Gram, et d'essayer toujours cette réaction colorante pour assurer le diagnostic.

Si l'on veut diagnostiquer plus sûrement encore la maladie, on inoculera une souris avec la pulpe du ganglion ou avec la culture sur gélose ; cette inoculation se fait très simplement au moyen d'un fil de platine enduit à son extrémité de la substance à inoculer qui est introduite sous la peau de la cuisse par une petite boutonnière faite avec des ciseaux.

Si le microbe inoculé est celui de la peste, la souris mourra en 2 à 4 jours, et à son autopsie on retrouvera le microbe caractéristique dans le sang et la rate.

Ce procédé de diagnostic par l'examen bactériologique d'un ganglion d'une personne morte nous a été de la plus grande utilité, et nous pouvons le recommander pour tous les cas où il n'y a pas de bubons et où il est utile d'être fixé sur la cause de la mort.

Mortalité et traitement. — La peste s'est montrée excessivement meurtrière chez les Annamites.

Sur 72 cas de peste, 39 personnes chez lesquelles la maladie a évolué normalement ou qui n'ont été traitées que par des médecins indigènes sont mortes sans exception.

Les 33 autres cas ont pu être traités par le sérum, quelquefois dans de bonnes conditions, mais le plus souvent quelques heures seulement avant la mort. Malgré cela, nous avons obtenu 19 guérisons et 14 décès, ce qui fait une mortalité de 42 0/0 chez les traités.

Ainsi, d'une part, 100 pour 100 de mortalité chez les non traités; de l'autre, 42 0/0 chez les malades qui ont reçu du sérum. Ces chiffres confirment les résultats que j'avais obtenus en Chine en 1896. Si la proportion de morts est encore considérable chez les Annamites, cela tient à leur peu de résistance, que je n'ai jamais vue si faible ni en Chine ni aux Indes.

Voici l'histoire de quelques malades traités par le sérum :

1^o *Qui*, pêcheur annamite de 27 ans, pris de peste le 9 juillet dans la soirée. Le malade nous est présenté le 10 juillet à 9 heures du matin : sa température est de 38°¹; il a de la céphalalgie, des éblouissements, il éprouve une grande lassitude; l'aîne gauche, région crurale, est douloureuse au toucher. Les ganglions y sont un peu engorgés. On injecte 20 c. c. de sérum.

A trois heures de l'après-midi, la T. est de 38°², les ganglions de l'aîne gauche ont un peu augmenté; on injecte encore 20 c. c. de sérum.

11 juillet. — A 7 heures du matin, T. 38°⁹; le bubon, qui a beaucoup augmenté, est très douloureux; à 5 h. soir, T. 40°³. On injecte 10 c. c. de sérum.

12 juillet. — A 7 heures du matin, T. 38°⁸. Bubon toujours gros et douloureux. On injecte 20 c. c. de sérum. A 5 h. soir, T. 38°⁵. Bubon toujours gros et douloureux, mais il est assez bien délimité.

13 juillet. — A 8 heures matin, T. 37°⁷. Très bon état général, bubon moins douloureux. A 5 heures soir, T. 38°⁶, bon état général, appétit.

14 juillet. — A 8 heures matin, T. 36°⁷; le malade est seulement gêné par son bubon, qui est gros comme un œuf de poule et qui suppurerait.

La température est dès lors normale.

Le 18 juillet, le bubon est suppuré; le malade entre en convalescence, mais celle-ci dure plus de deux mois, car lorsqu'un bubon pesteux suppure, il s'y forme presque toujours un bourbillon qui met d'autant plus de temps à s'éliminer et à se cicatriser qu'il est plus considérable.

Le cas suivant est un exemple de peste à bubon guéri sans suppuration :

2^o *Xieng*, fille annamite de 17 ans, prise de peste le 17 août au matin.

Nous voyons la malade à midi. Sa température est de 39^o,8. Accablement, vertige, vomissements. Bubon axillaire gauche très douloureux, gros comme une noisette. Injecté 30 c. c. de sérum. A 5 heures du soir, T. 38^o,6; état général meilleur. Injecté encore 10 c. c. sérum.

18 août. — 8 heures matin, T. 36^o,8; état général excellent; le bubon a beaucoup diminué. A 5 heures soir, température normale; le bubon continue à diminuer.

19 août. — Température normale, bubon presque disparu. La malade peut être considérée comme guérie.

Histoire d'un malade mort malgré le traitement.

3^o *Ham*, homme annamite de 21 ans, est pris de peste dans la nuit du 18 au 19 août.

19 août. Nous voyons le malade à 6 heures du matin, T. 39^o,9. Le malade délire et a des soubresauts nerveux. Bubon crural gauche très douloureux. Injecté 40 c. c. de sérum. A 5 heures du soir, T. 39^o,5; le bubon a beaucoup grossi et n'est pas bien limité. Le malade a des vomissements, il est inconscient. Injecté 20 c. c. de sérum.

20 août. — A 8 heures du matin, T. 38^o,4. Amélioration très notable; le malade a repris connaissance, mais le bubon ne diminue pas. A 5 heures soir, T. 38^o,8.

21 août. — A 8 heures matin, T. 38^o,1; l'état général est bon, mais le bubon devient de plus en plus gros et diffus. A 5 heures soir, la température monte à 39^o,5; la respiration est anxieuse, le malade agité. Il meurt subitement à 6 heures du soir.

Exemple d'un cas de peste sans bubons guéri par le sérum.

4^o *Lun*, femme du cas n^o 1, âgée de 21 ans, prise de peste, le même jour que son mari, le 9 juillet dans la soirée.

10 juillet. — Nous voyons la malade à 9 heures du matin: grande lassitude, vertige, céphalalgie. T. 38^o,9. Aucun bubon. On injecte 20 c. c. de sérum. A 4 heures du soir, T. 40^o,1, la malade est très abattue, somnolente; céphalalgie violente. Injecté 20 c. c. sérum.

11 juillet. — A 7 heures matin, T. 38^o,0. La nuit a été bonne; état général satisfaisant. Injecté encore 10 c. c. de sérum. A 5 heures soir, T. 38^o,7.

12 juillet. — A 7 heures matin, T. 38^o,3, la malade va beaucoup mieux. Injecté encore 10 c. c. de sérum. A 5 heures soir, T. 38^o,7.

13 juillet. — A 7 heures matin, T. 39^o,5. Rien dans l'état général n'explique cette haute température. A 5 heures soir, T. 39^o,8; bon appétit, la malade dit se sentir très bien.

14 juillet. — A 7 heures matin, T. 37^o,4. A 5 heures soir, T. 37^o,8.

15 juillet. — La température est normale; la malade peut être considérée comme guérie.

Le tableau ci-dessous donne quelques renseignements statistiques sur la proportion des Annamites atteints par rapport au sexe et à l'âge.

HOMMES.....	{	Enfants.....	12	}	32
		Adultes.....	15		
		Vieillards.....	5		
FEMMES.....	{	Enfants.....	8	}	40
		Adultes.....	21		
		Vieillards.....	11		
TOTAL.....					72

Si les femmes ont été atteintes plus que les hommes, cela tient à leur genre de vie qui les retient davantage dans les maisons, où nous avons vu que réside l'agent infectieux, tandis que les hommes vivent, la plus grande partie du temps, sur leurs jonques de pêche.

Mesures générales contre l'épidémie. — Dès que l'épidémie a été nettement constatée dans le village de Xuong-Huan, nous avons pris, outre les mesures quaranténaires, les dispositions suivantes :

Obligation aux notables du village de venir nous avertir de tout cas de maladie se produisant dans le village.

Si nous reconnaissons la peste, nous faisons de suite évacuer la population de la maison infectée dans une ile où nous avons établi un lazaret.

Le malade était placé dans une petite maison en bambou et paillote, avec une personne de sa famille pour le soigner; les autres habitants de la maison étaient inoculés préventivement avec le sérum et réunis dans une paillote éloignée du lazaret-hôpital.

La maison infectée était aussitôt brûlée, ainsi que les maisons voisines dont les habitants étaient également isolés au lazaret pour une quinzaine de jours.

Nous avons largement pratiqué les inoculations préventives avec le sérum, et nous avons pu constater qu'aucune de ces personnes n'a été atteinte.

Grâce à ces mesures radicales, la peste s'éteignit très vite dans le village de Xuong-Huan; mais ce qui était à prévoir arriva.

Un certain nombre d'habitants, pour éviter l'isolement au lazaret, s'étaient réfugiés dans le village voisin. L'un d'eux meurt de la peste. On l'enterre clandestinement pour éviter l'incendie de la maison, et nous n'avons su l'existence de ce nouveau foyer que lorsque plusieurs personnes étaient déjà mortes dans des maisons différentes.

Il aurait fallu, à ce moment, brûler une centaine de maisons, mais il était à craindre que la panique ne se mit dans le village et que les habitants ne portassent l'infection au loin.

Nous avons donc essayé de faire seulement évacuer et fermer les maisons infectées et d'en isoler les habitants.

L'expérience nous a montré que cette mesure était insuffisante, puisque la peste continuait à s'étendre aux maisons voisines de celles évacuées.

Il n'y avait dès lors plus à hésiter; un nouveau village a été construit à deux kilomètres de la zone infectée, et la population de Phuong-Can et de Nhatrang y a été transportée en trois séries, après que chacune d'elles eût séjourné pendant 15 jours au lazaret. Le village infecté a été entièrement brûlé et défense a été faite aux habitants d'y reconstruire des maisons pendant une année au moins.

La peste a été ainsi instantanément enrayée, ce qui prouverait que cette mesure était la seule absolument efficace.

Conclusions. — La race annamite est aussi susceptible de contracter la peste que les races chinoise et hindoue. Les Annamites m'ont même paru plus sensibles à cette maladie, et la mortalité a été chez eux proportionnellement plus forte que partout ailleurs.

Il y a eu à Nhatrang, du 15 juin au 31 octobre 1898, 72 cas de peste dont 33 décès, ce qui donne comme mortalité générale 73 0/0.

Ce chiffre est inférieur à ceux des épidémies de la Chine et de l'Inde, qui ont causé 83 à 90 0/0 de mortalité. L'écart entre ces deux pourcentages est dû au traitement par le sérum et à la guérison d'un certain nombre de malades.

Sur 33 personnes traitées, nous en avons guéri 19 et perdu 14 : mortalité, 42 0/0.

Sur 39 personnes non traitées, toutes sont mortes sans exception : mortalité, 100 0/0.

Les mesures générales qui nous ont paru nécessaires pour enrayer l'épidémie ont été les suivantes :

1^o Destruction par le feu de toutes les maisons contaminées et d'une large zone de maisons saines tout autour ;

2^o Désinfection soigneuse au crésyl, ou mieux à l'éthuve, de

tous les effets que les habitants des maisons contaminées et des maisons saines voisines ont emportés avec eux;

3° Isolement immédiat des malades et de leur famille dans un lazaret;

4° Transport de la population de la zone infectée dans un village nouvellement construit à cet effet;

5° Interdiction, au moins pendant une année, faite aux habitants, de reconstruire leurs maisons sur l'emplacement de l'ancien village contaminé;

6° Déclaration de tous les décès qui se produisent dans les villages voisins. Si l'un d'eux paraît tant soit peu suspect, le cadavre sera visité et on enlèvera un ganglion pour l'examen bactériologique;

7° Recommandation expresse à tous les villages de ne pas recevoir les habitants de la zone infectée, ni leurs effets d'habillement ou de mobilier pendant la durée de l'épidémie;

8° Établissement dans le nouveau village d'un service de surveillance très sévère, afin de pouvoir être averti de suite de toute indisposition ou maladie qui s'y produirait.

Je crois qu'une excellente mesure serait la destruction des rats et souris dans les villages voisins de la zone infectée, puisque nous savons aujourd'hui que la peste est transportée principalement par ces rongeurs et leurs parasites.

J'estime que si un nouveau foyer de peste se déclarait en quelque autre point de l'Indo-Chine, ce qui est de plus en plus à craindre, il ne faudrait pas hésiter à prendre les mesures que je viens d'énumérer, à l'exception peut-être de l'incendie des maisons.

Si cette précaution est excellente par elle-même, elle offre par contre le danger d'effrayer et de nous aliéner la population, qui évitera par tous les moyens, et surtout par la dissimulation des cas et par la fuite, la perte de quelques hardes auxquelles elle tient d'autant plus qu'elles sont plus usagées, et qui transportera ainsi l'épidémie dans d'autres villages.

L'indigène n'a d'ailleurs jamais compris la gravité de cette maladie, qu'il ignorait jusqu'à ce jour, et dont le nom n'existait même pas. Malgré toutes les instructions, les explications et les exemples des cas traités sous leurs yeux, les Annamites attribuent encore aujourd'hui les décès causés par la peste à l'in-

fluence surnaturelle des Génies irrités : la pagode de Nhatrang étant habitée provisoirement par le sous-préfet indigène, les habitants sont venus déclarer à l'autorité française que le Génie du village, mécontent de cette usurpation, avait déchaîné cette nouvelle maladie. Il a fallu s'incliner devant cette croyance et pourvoir le sous-préfet d'un nouveau local. L'épidémie n'en a pas moins continué. D'autres décès ont eu pour cause la colère de la déesse Baghavati, dont l'esprit serait caché dans un antique monument chame, que tout annamite révere et craint.

C'est d'ailleurs par des sortilèges et des incantations que les médecins annamites prétendent combattre la peste, lorsque leurs médecines sont restées impuissantes.

La superstition est donc un facteur dont nous devons tenir compte dans une certaine mesure pour l'application de nos prescriptions sanitaires.

A l'heure actuelle, tous nos efforts doivent tendre à empêcher la peste de s'implanter en Indo-Chine. L'Inde anglaise nous offre un exemple des ravages que peut causer cette maladie le jour où elle a pu s'établir dans un pays et des difficultés insurmontables que l'on éprouve alors à arrêter sa marche meurtrière.

Il nous est toutefois permis d'espérer que la science n'a pas dit son dernier mot. Nos méthodes se perfectionnent de jour en jour, et il n'est pas impossible que nous arrivions à être maître de la peste comme Jenner l'a été de la variole.

Nhatrang, 26 janvier 1899.

RECHERCHES SUR LA MARCHÉ DE L'IMMUNISATION ACTIVE CONTRE LA DIPHTÉRIE

PAR C. J. SALOMONSEN ET TH. MADSEN

(Travail du laboratoire de bactériologie médicale de l'Université de Copenhague.)

DEUXIÈME MÉMOIRE

Il y a maintenant quatre ans qu'on a commencé dans les différents pays de produire en grand le sérum antidiphtérique : on a pourtant publié encore très peu de communications précises touchant les variations de la force antitoxique durant l'immunisation des chevaux.

MM. *Brieger* et *Ehrlich* ont tracé la première « courbe d'antitoxine » en se basant sur une série continue de mesures de la force antitoxique du sang chez une chèvre qu'on avait activement immunisée contre le tétanos. Cette courbe était unique dans la science jusqu'à la publication de notre mémoire publié dans ces *Annales* en 1897¹. Nous avons continué nos expériences autant que les circonstances nous l'ont permis.

Quand nous commençâmes en Danemark la production de sérum antidiphtérique à la fin de 1894², le laboratoire de *M. Roux* à l'Institut Pasteur fut le seul qui sans réserve mit son expérience à la disposition de tous les bactériologistes, communiqua tous les détails de la fabrication, fournit aux autres laboratoires des cultures toxigènes, en tout fit son possible et pour faciliter la fabrication du sérum antidiphtérique, et pour permettre aux médecins et aux malades de profiter du nouveau traitement.

Aussi, au commencement, avons-nous suivi exactement les

1. SALOMONSEN ET MADSEN, *Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie*.

2. Le gouvernement et les Chambres ayant accordé le crédit nécessaire, la fabrication fut aussitôt commencée, et depuis l'été 1895 des quantités considérables de sérum antidiphtérique ont été distribuées gratuitement à tous les médecins et à tous les hôpitaux de Danemark. (Voir *C. J. Salomonsen : Fremstilling og Uddeeling af antidifterisk Serum i Danmark, Copenhague 1897.*)

indications de MM. Roux et Martin pour la fabrication, le dosage du poison. etc. ; nous avons fait les grandes saignées à peu près chaque mois, et ce fut exceptionnellement que nous avons fait des déterminations de la force antitoxique du sérum hors des jours de saignée. Des observations ainsi recueillies, nous ne mentionnerons ici que *la baisse antitoxique habituelle* chez les chevaux immunisés. Nous appelons ainsi la tendance à une baisse permanente de la force antidiphtérique du sérum chez les chevaux immunisés depuis longtemps. et en conséquence traités alternativement par des injections de poison et des saignées d'après la méthode de MM. Roux et Martin.

Nos quatre premiers chevaux ont montré très nettement ce phénomène. Même par l'emploi continuél de doses relativement considérables (800-1000 c.c.) de poison diphtérique puissant, nous n'avons pu éviter des baisses importantes et continues dans la force antitoxique du sang. Quand, pour la première fois, nous observâmes ce fait, nous fûmes naturellement conduits à en chercher la cause.

Cette baisse habituelle est-elle due à ce que l'*antitoxine disparaît* de l'organisme par une sécrétion plus rapide ou plus abondante qu'à l'ordinaire? ou est-elle due à une *diminution du pouvoir antitoxigène* du cheval?

La première hypothèse était assez plausible, puisque les travaux de plusieurs savants (*Roux et Behring* entre autres) avaient constaté que l'antitoxine se trouve dans différentes sécrétions.

L'explication du problème n'est pourtant pas à chercher dans ce fait. D'abord une comparaison des quantités d'antitoxine dans le sang et dans les sécrétions nous montra que cette dernière *quantité est trop petite* pour expliquer la baisse en question.

Puis, s'il y avait, pendant la baisse du pouvoir antitoxique du sang, une quantité plus grande d'antitoxine éliminée, les oscillations de la force antitoxique des sécrétions devaient être en rapport inverse avec celles du sang. Dans notre mémoire citée, nous avons déjà montré que tel n'est pas le cas quant au *lait*. Au contraire les variations de la force antitoxique du lait suivent très exactement les variations correspondantes du sang pendant une période de 43 jours. Quant à l'*urine*, à la *salive* et à la *sueur*, nous avons tâché d'établir une comparaison analogue pour deux chevaux A et B (Voir le tableau I).

TABLEAU I

JOUR d'expérience.	QUANTITÉ du POISON injecté en c. c.	UNITÉS D'IMMUNISATION PAR CENT. CUBE.							
		CHEVAL A				CHEVAL B			
		SANG	SALIVE	SUEUR	URINE	SANG	SALIVE	SUEUR	URINE
1	1								
8	5								
17	10								
21	20								
27	40								
37	70	20				25			
46	100								
52	200								
62	400	40				75			
78		45				110			
83		40				110			
91	800	35	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{160}$	110	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$< \frac{1}{300}$
92		30							
93		25	$< \frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$< \frac{1}{300}$	90	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	
95		20	$< \frac{1}{160}$	$< \frac{1}{300}$		100			
97		30				110	$\frac{1}{10}$		
98		35	$\frac{1}{160}$	$< \frac{1}{300}$					
100		40		$\frac{1}{20}$		145	$\frac{1}{10}$		
103		35	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$		160			
106		35				165			
108						165			
111		30	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{30}$		165			
113		30				165			
116						180			
118		30				140			

La force antitoxique de l'*urine* se montre très faible, presque imperceptible. L'étude des deux autres sécrétions a été plus difficile, vu leur manque de stérilité et leur faible pouvoir antitoxique. Néanmoins on a réussi à démontrer *une concordance dans les variations du sang et des deux sécrétions mentionnées* pour les deux chevaux examinés. Durant la baisse de la force antitoxique du sang, celle des sécrétions diminuait à si haut degré, qu'elle était difficile à mesurer.

On voit, par ce qui précède, que le rapport entre la force antitoxique des sécrétions et celle du sang se conserve à peu près constant pendant quelque temps. Néanmoins ce rapport n'est point toujours constant, même pour le même animal. Nous en avons trouvé un exemple dans la jument étudiée dans notre premier travail, pour laquelle le rapport entre la force antitoxique du lait et du sang fut, une semaine après le part, comme 1 : 90, et plus tard, comme 1 : 200. Pour les chevaux A et B, le rapport correspondant à la salive et à la sueur fut comme 1 : 1.000 ou 1.500 pendant les recherches en question; plus tard le rapport diminuait beaucoup.

Restait donc à se demander si la baisse habituelle de l'*antitoxine* indique une diminution de la force antitoxigène chez les animaux employés longtemps aux expériences?

Une réponse sûre ne peut être obtenue que par une série de recherches sur les variations de la puissance antidiphtérique du sang provoquées par une injection de poison.

Nous avons entrepris cette recherche sur un cheval dont l'immunisation avait été commencée depuis vingt et un mois, et qui avait été saigné 10 fois en tout.

La figure 1 donne une représentation graphique du résultat, les chiffres des ordonnées indiquant les unités d'immunisation par c. c., ceux des abscisses les jours d'expériences.

La force antidiphtérique ayant été constante et de 45 pendant une semaine, le cheval reçut 1,000 c. c. de toxine de force telle que 0.1 c. c. tua un cobaye pesant 500 gr. en environ 48 heures. La conséquence fut une baisse primaire à 25 pendant les deux jours suivants, puis une hausse jusqu'à 50, durant le même intervalle; après cela la force antitoxique baissa jusqu'à 45 où elle se conserva constante dans les jours suivants.

Il résulte donc de cette expérience que 1,000 c. c. de fort

poison n'ont pu produire une augmentation considérable de la force antidiphthérique du sang, pas même passagère. Dans ce cas, on ne saurait douter que *la faculté antitoxigène de l'organisme ne soit affaiblie d'une manière évidente.*

Qu'est-ce qui produit cet affaiblissement? Sans doute *l'intoxication répétée* et les *saignées abondantes* y jouent un rôle.

Quant aux *injections de poison*, nous avons déjà communiqué cette observation que trois injections consécutives de la même quantité de poison donnaient des résultats toujours plus faibles

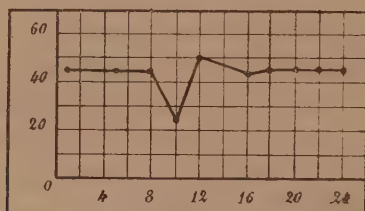


Fig. 1

et pour la hausse et pour la baisse de la force antidiphthérique du sang. Le même phénomène s'est montré plus tard chez un autre cheval, quoique à un degré moins prononcé. Dans notre travail cité, nous avons tâché de montrer que l'explication est probablement à chercher dans une accoutumance vis-à-vis du poison, qui en même temps diminue la sensibilité pour ses effets nuisibles et affaiblit la puissance de sécrétion de l'antitoxine. En outre, on sait que plusieurs savants sont d'avis que, pour produire du sérum de grande force antitoxique, il est nécessaire d'augmenter les doses de poison *avec une extrême lenteur* et avec beaucoup de précautions, en s'efforçant d'éviter des symptômes morbides. En considérant tout ceci, on est forcément conduit à supposer que l'injection de poison répétée contribue à affaiblir la faculté antitoxigène.

Quant aux *saignées*, nos expériences ne laissent aucun doute sur leurs effets analogues :

1° Les grandes saignées sont immédiatement suivies de si fortes baisses de la force antitoxique, qu'elles *ne peuvent pas être expliquées simplement par la dilution du sang*, mais doivent être considérées comme des conséquences de l'influence nuisible sur la production de l'antitoxine, due à l'anémie aiguë.

2° Nous avons observé une baisse prononcée et définitive de la force antitoxique du sang après chaque grande saignée, et cela que la baisse soit progressive (voir ces *Annales*, t. XII, p. 768) ou que l'animal regagne son équilibre antitoxique (voir la courbe, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XI, p. 319.)

Ces recherches sur la baisse antitoxique habituelle n'ont pas seulement une valeur pratique, elles s'accordent avec la série d'observations qui montrent que le degré d'immunité d'un organisme ne peut pas être mesuré simplement par sa quantité totale d'antitoxine, comme on l'a supposé immédiatement après la découverte de M. *Behring*. Ce fut ce savant lui-même qui réfuta cette supposition en établissant l'idée de « l'immunité de tissu ». Sa conception s'accorde avec les travaux de M. *Metchnikoff* sur le choléra, avec ceux de MM. *Roux* et *Vaillard* sur le tétanos, et avec ceux de M. *Pfeiffer* sur le typhus, quant aux pouvoirs bactéricide et antitoxique.

Le même phénomène reparaît chez nos chevaux, qui n'ont jamais montré de sensibilité augmentée pour la toxine antidiphthérique, même si la force du sérum avait diminué considérablement : c'était plutôt le contraire.

Nous avons fait ressortir plus haut la grande importance que pourraient présenter les courbes d'antitoxine, pour déterminer les doses convenables de toxine, leur juste gradation, les intervalles entre chaque injection, et pour dire quel jour, après la dernière injection, il faut saigner.

En outre, ces courbes d'antitoxine ont un grand intérêt scientifique, comme pouvant conduire à une conception plus profonde du mécanisme très compliqué de l'immunisation active.

Pour résoudre toutes ces questions, il est nécessaire de disposer de nombreuses courbes d'antitoxine, car les différents chevaux montrent de grandes différences individuelles quant à leur faculté antitoxigène. Cette observation a été faite par tous ceux qui se sont occupés de la fabrication de sérum.

Deux de nos courbes offrent un très bon exemple de ces différences individuelles. Elles ont rapport à deux chevaux A et B, qui furent immunisés exactement de la même manière par des doses de même grandeur du même poison injectées simultanément. Les deux chevaux différaient considérablement : A était une jument petite, vive, grise, âgée de douze ans et pesant

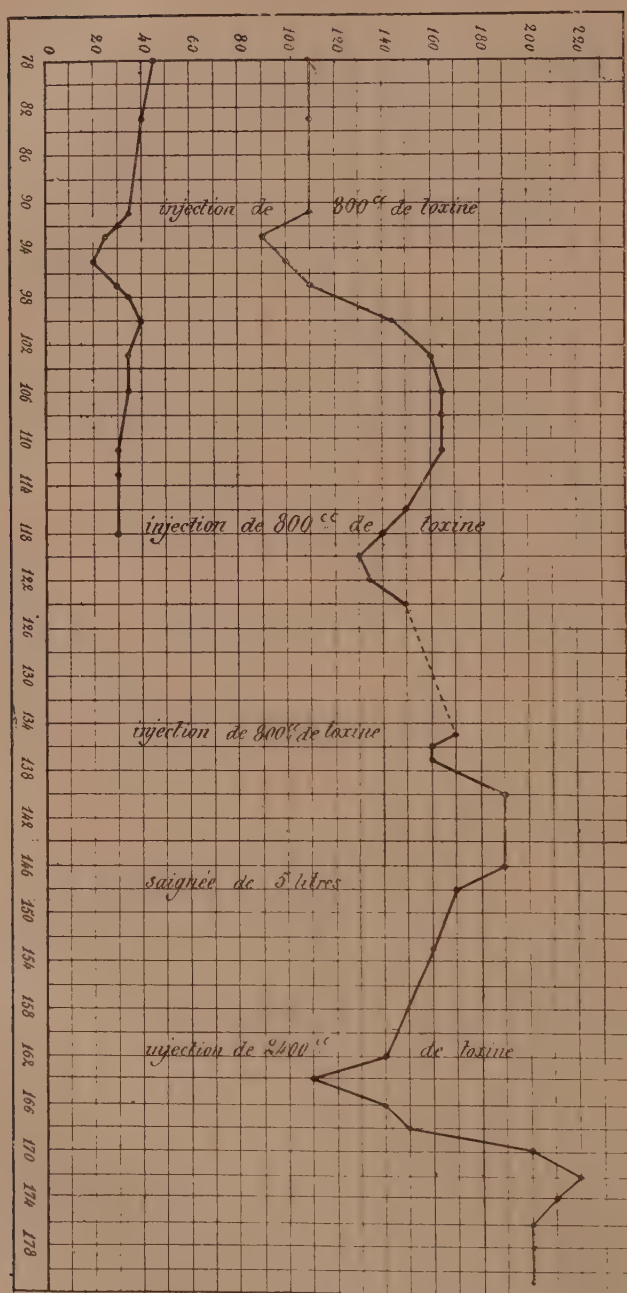


Fig. 2.

450 kilogs, tandis que B était un hongre, grand, lourd, brun, âgé de sept ans et pesant 573 kilogs. Les mesures comparatives s'étendaient sur un laps de temps de 118 jours.

Déjà les mensurations entreprises pendant les premiers 77 jours nous ont montré la différence entre la manière de réagir des deux chevaux; mais encore plus prononcée fut la différence entre la 78^e et la 118^e journée, comme elle saute aux yeux dans la représentation graphique ci-contre. (Fig. 2.)

Après l'introduction de la même quantité de poison en même temps, le sang de A n'atteint que 40 tandis que celui de B s'élève à un maximum de 165. Nous retrouvons donc chez le cheval A la même forme de courbe que nous avons observée chez cet autre cheval dont nous avons mentionné auparavant la baisse d'antitoxine habituelle. (Fig. 1.)

Ce n'est pas seulement dans leur pouvoir antitoxigène (c.-à-d. dans la *hauteur* absolue des ordonnées des courbes) que les chevaux montrent des différences individuelles et évidentes. — La *forme* de la courbe d'antitoxine peut de même varier beaucoup pour des chevaux immunisés tout à fait de la même manière. Nous allons citer comme exemples les courbes suivantes :

1^o la courbe indiquée par nous dans ces *Annales* (t. XI, p. 319);

2^o — — — pour le cheval A (Fig. 2);

3^o — — — — — B (Fig. 2).

qui montrent la réaction de trois chevaux immunisés après *une seule* injection d'une *quantité considérable de poison*.

Un coup d'œil sur ces figures nous apprend que pour la courbe 1^o, il y a à peu près *égalité* entre chaque *abaissement* et la *surélévation* suivante;

Pour la courbe 2^o (cheval B), une *surélévation considérable* suivait toujours après un *petit abaissement*;

Enfin pour la courbe 3^o (cheval A), on obtenait au contraire un *abaissement* relativement *grand* (15) et une *surélévation* *minime* (5).

D'ailleurs il y a une certaine *analogie* à d'autres égards entre la manière de réagir des trois chevaux :

1^o Nous avons déjà mentionné que deux des courbes montrent une *diminution successive des réactions* à chaque nouvelle injection de la même quantité de poison;

2^o Le *moment de la force maximum* de l'antitoxine pour les

trois chevaux arrive à peu près 9 à 12 jours après l'injection du poison, malgré la forme très différente des courbes.

Pour la technique de la fabrication du sérum antitoxique, il est très important de pouvoir déterminer l'époque où la force antitoxique s'est élevée à son maximum.

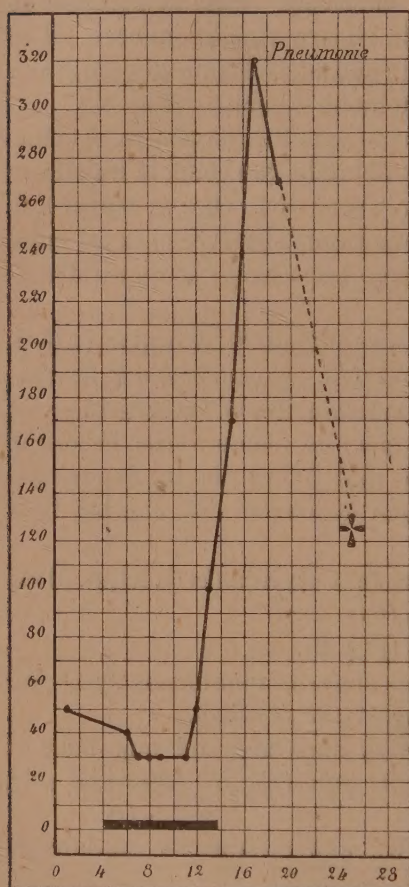


Fig. 3

Le temps indiqué ci-dessus (9-12 jours) ne vaut bien entendu que pour la forme d'immunisation employée : *injection sous-cutanée d'une seule grande quantité de poison*. Pour chaque nouveau procédé on doit en déterminer le moment du maximum. Nous allons éclaircir cette question en communiquant les expériences suivantes, dont le but a été d'examiner la manière de réagir contre une série d'injections fortes se suivant à courts intervalles

1^o Notre première expérience de cette espèce fut exécutée avec un cheval auquel on injecta sous la peau, durant 8 jours consécutifs, journellement 200 grammes de poison diphtérique ¹.

Au commencement de l'expérience, la force antitoxique du sérum fut environ 50. Au 6^e jour après la

dernière injection, la force du sérum fut 140; mais à la saignée entreprise 5 jours plus tard, le sérum retiré du cheval était réduit à 70. Cette observation nous a fait examiner plus systématiquement la question de l'influence qu'exercent sur la force

1. La force du poison diphtérique employé dans cette expérience et celles qui suivent fut telle que 0,01 c. c. tua un cobaye pesant 250 grammes en environ 4 jours.

antitoxique de fortes injections se suivant à *de courts intervalles*.

2° Chez un cheval, dont la force (v. Fig. 3) du sérum était descendue d'environ 50 jusqu'à 40 dans les 5 jours précédant immédiatement les injections, on injecta sous la peau journellement pendant 8 jours 500 c. c. de poison. Les jours d'injection sont indiqués sur la figure par une grosse ligne noire.

La première injection causa une baisse depuis 40 jusqu'à 30. Malgré l'introduction journalière de grandes quantités de poison la force du sérum fut constante pendant les 5 jours suivants, et pendant les deux derniers jours elle s'accrut même de 30 jusqu'à 100. Durant les 4 jours suivants elle atteignit même 320!

A cette époque le cheval eut une pneumonie et mourut après une maladie de 8 jours, avec une baisse rapide de la force antitoxique.

3° Le cheval dont la première courbe d'antitoxine est reproduite sur la figure 4 montra, dans la dernière semaine avant les injections, une force de sérum de 60, qui tomba plus tard à 50. Pendant les 9 jours suivants, l'animal reçut 8 injections de

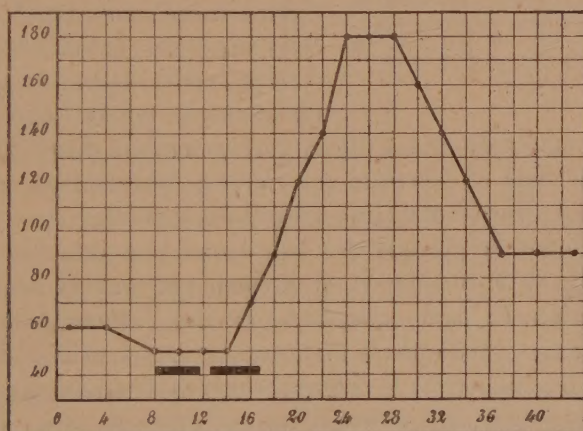


Fig. 4.

200 c. c. de poison. Néanmoins la force antitoxique fut constante les 7 premiers jours d'injection, mais après, pendant l'intervalle du 7^e jusqu'au 9^e jour après l'injection, elle monta à 70, et pendant les 8 jours suivants elle atteignit même 180. A ce point la force se tint invariable pendant 4 jours et puis elle baissa à 140 et au-dessous.

Pendant la période suivante, le même cheval fut injecté 2 fois de la même manière, avec saignées consécutives. 5 mois après

l'expérience, on injecta de nouveau 200 c. c. de poison pendant 4 jours et puis, après un intervalle de même durée, encore une fois pendant 4 jours 200 c. c. de poison.

La courbe (Fig 5) montre que les variations sont alors bien plus petites que dans l'expérience précédente, ce qui peut s'expliquer en supposant que la sensibilité de l'animal contre ce procédé d'immunisation est émoussée. Pour obtenir une forte réaction il aurait probablement fallu, à ce point de l'immunisation, employer une bien plus grande quantité de poison (Ex. la variation après la dernière injection sur la courbe Fig. 2).

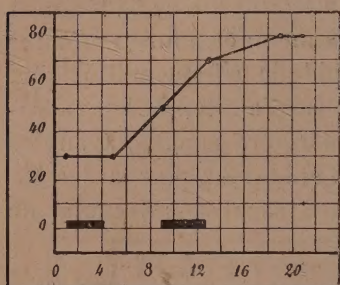


Fig. 5.

Nous appelons l'attention sur les particularités suivantes des courbes mentionnées :

1° Quoique on put s'attendre à une baisse très grande et éventuellement à une disparition complète de la force antitoxique *par l'injection coup sur coup de grandes doses de poison, la baisse a été nulle ou tout au plus insignifiante*, tandis qu'en même temps l'état général

du cheval était très atteint (fièvre forte, manque d'appétit). Pour le moment nous ne pouvons que noter ce phénomène que nous avons aussi observé dans une quatrième expérience ;

2° Pendant la période des injections journalières avec de grandes doses de poison, et en présence de graves symptômes d'intoxication, *la force antitoxique du sang commence à s'élever rapidement*. Les phénomènes mentionnés sous 1° et 2° s'accordent d'ailleurs très bien avec les observations expérimentales et cliniques chez les individus morts d'une infection ou d'une intoxication, en même temps que leur sang contient beaucoup d'antitoxine (Behring, Metchnikoff et plusieurs autres) ;

3° Le *maximum* de la force antitoxique s'atteint relativement vite (en 4 à 8 jours) après la dernière injection ;

4° L'élévation de la force antitoxique fut relativement grande dans 2 des cas : depuis 30 jusqu'à 320 dans l'un des cas, et dans l'autre depuis 50 jusqu'à 180.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie E. Charaire.